

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK TEMPE TERHADAP JUMLAH
DUKTUS KELENJAR SUSU PAYUDARA PADA TIKUS PUTIH BETINA
(*Rattus norvegicus*) STRAIN WISTAR**

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kebidanan**



Oleh :

**Eldini Hudiningrum Wijayanto Putri
NIM 145070601111015**

PROGRAM STUDI S1 KEBIDANAN

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2018

DAFTAR ISI

JUDUL.....	1
HALAMAN PENGESAHAN.....	Error! Bookmark not defined.
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	Error! Bookmark not defined.
KATA PENGANTAR	Error! Bookmark not defined.
ABSTRAK.....	Error! Bookmark not defined.
ABSTRACT	Error! Bookmark not defined.
DAFTAR ISI.....	2
DAFTAR GAMBAR.....	Error! Bookmark not defined.
DAFTAR TABEL.....	Error! Bookmark not defined.
DAFTAR SINGKATAN.....	Error! Bookmark not defined.
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang	Error! Bookmark not defined.
1.2 Rumusan Masalah.....	Error! Bookmark not defined.
1.3 Tujuan Penelitian.....	Error! Bookmark not defined.
1.3.1 Tujuan Umum	Error! Bookmark not defined.
1.3.2 Tujuan Khusus.....	Error! Bookmark not defined.
1.4 Manfaat penelitian	Error! Bookmark not defined.
1.4.1 Manfaat Akademik	Error! Bookmark not defined.
1.4.3 Manfaat Praktis.....	Error! Bookmark not defined.

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pubertas Dini.....	Error! Bookmark not defined.
2.2 Tempe.....	Error! Bookmark not defined.

2.2.1 Pengertian Tempe	Error! Bookmark not defined.
2.2.2 Kandungan Tempe	Error! Bookmark not defined.
2.3 Fitoestrogen	Error! Bookmark not defined.
2.3.1 Pengertian Fitoestrogen.....	Error! Bookmark not defined.
2.3.2 Isoflavon	Error! Bookmark not defined.
2.3.3 Cara Kerja Isoflavon	Error! Bookmark not defined.
2.4 Payudara.....	Error! Bookmark not defined.
2.4.1 Anatomi Payudara	Error! Bookmark not defined.
2.5 Pengaruh Fitoestrogen terhadap Payudara	Error! Bookmark not defined.
2.6 Tikus Rattus norvegicus	Error! Bookmark not defined.
2.6.1 Siklus Reproduksi Hewan Coba.....	Error! Bookmark not defined.

BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESA PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep.....	Error! Bookmark not defined.
3.2 Penjelasan Kerangka Konsep	Error! Bookmark not defined.
3.3 Hipotesa Penelitian	Error! Bookmark not defined.

BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian	Error! Bookmark not defined.
4.2 Populasi dan Sampel Penelitian	Error! Bookmark not defined.
4.2.1 Populasi Penelitian	Error! Bookmark not defined.
4.2.2 Sampel Penelitian	Error! Bookmark not defined.
4.3 Variabel Penelitian	Error! Bookmark not defined.
4.3.1 Variabel Bebas	Error! Bookmark not defined.
4.3.2 Variabel tergantung.....	Error! Bookmark not defined.
4.4 Definisi Istilah/Operasional	Error! Bookmark not defined.

4.5 Lokasi dan Waktu Penelitian	Error! Bookmark not defined.
4.5.1 Lokasi Penelitian.....	Error! Bookmark not defined.
4.5.2 Waktu Penelitian.....	Error! Bookmark not defined.
4.6 Bahan dan Alat/ Instrumen Penelitian.....	Error! Bookmark not defined.
4.7 Prosedur Penelitian/ Pengumpulan Data.....	Error! Bookmark not defined.
4.7.1 Alur Penelitian.....	Error! Bookmark not defined.
4.7.2 Prosedur Persiapan Hewan Coba.....	Error! Bookmark not defined.
4.7.3 Prosedur Ekstraksi Tempe di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya	Error! Bookmark not defined.
4.7.4 Prosedur Pengenceran Hasil Ekstrak Tempe.....	Error! Bookmark not defined.
4.7.5 Prosedur Pemberian Ekstrak Tempe	Error! Bookmark not defined.
4.7.6 Prosedur pengukuran pH Vagina Menggunakan pH Indikator Strips MERCK	Error! Bookmark not defined.
4.7.8 Prosedur Pengambilan Sampel Organ/ Pembedahan Hewan Coba .	Error! Bookmark not defined.
4.7.9 Prosedur Pembuatan Sediaan Histologi.....	Error! Bookmark not defined.
4.8 Analisis Data	Error! Bookmark not defined.

BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA

5.1 Hasil Penelitian	Error! Bookmark not defined.
5.2 Analisa Data.....	Error! Bookmark not defined.

BAB 6 PEMBAHASAN

6.1 PEMBAHASAN	Error! Bookmark not defined.
----------------------	-------------------------------------

BAB 7 PENUTUP

7.1 Kesimpulan	Error! Bookmark not defined.
7.2 Saran	Error! Bookmark not defined.

DAFTAR PUSTAKA..... Error! Bookmark not defined.



ABSTRAK

Hudiningrum, Eldini. 2018. ***Pengaruh Pemberian Ekstrak Tempe terhadap Jumlah Duktus Kelenjar Susu Payudara pada Tikus Putih Betina (Rattus Norvegicus) Strain Wistar***". Tugas Akhir, Program Studi Kebidanan, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Dr.dr. Nurdiana, M.Kes., (2) dr. Danik Agustin P, M.Kes

Payudara merupakan salah satu organ reproduksi pada perempuan. Perkembangan payudara dipengaruhi oleh hormon steroid yakni estrogen dan progesteron. Dimana, pada epitel mammae terdapat reseptor estrogen. Dua reseptor estrogen pada payudara, yakni reseptor estrogen α dan reseptor estrogen β . Tempe merupakan salah satu produk kedelai yang mengandung fitoestrogen dan dapat mempengaruhi reproduksi perempuan. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak tempe terhadap jumlah duktus kelenjar susu payudara tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar dengan desain eksperimental murni. Tikus usia 4 minggu berjumlah 28 ekor dibagi menjadi 4 kelompok dengan dosis per hari: Kontrol (K); Perlakuan 1 (P1)= 7,5mg/200grBB; Perlakuan 2 (P2)= 15mg/200grBB; Perlakuan 3 (P3)= 30mg/200grBB. Ekstrak tempe diberikan selama 28 hari, Setelah itu, dilakukan pembedahan untuk pengambilan payudara tikus. Kemudian, dilakukan pembuatan preparat dengan pewarnaan metode HE (Hematoxylin Eosin) serta perhitungan jumlah duktus kelenjar susu payudara tikus. Hasil rerata jumlah duktus pada kelompok kontrol adalah $50,55 \pm 3,23$. Pada kelompok P1 memiliki nilai rerata jumlah duktus $34,95 \pm 5,67$. Kemudian, pada kelompok P2 nilai rerata yakni $46,83 \pm 11,25$. Serta, pada kelompok P3 didapatkan rerata jumlah duktus $44,50 \pm 5,75$. . Berdasarkan hasil uji analisa *one-way* ANOVA, didapatkan *p-value* sebesar 0.122 ($p > 0.05$) yang mengandung arti tidak adanya perbedaan yang signifikan antara pemberian ekstrak tempe terhadap jumlah duktus kelenjar susu payudara *Rattus norvegicus*.

Kata Kunci : payudara, fitoestrogen, ekstrak tempe, kelenjar mammae

ABSTRACT

Hudiningrum, Eldini. 2018. **Effect of Giving Tempeh Extract to Number of Ductus Glandula Mammariae on (*Rattus Norvegicus*) Strain Wistar**. Final Assignment, Midwifery Program, Faculty of Medicine, Brawijaya University. Supervisors: (1) Dr.dr. Nurdiana, M.Kes., (2) dr. Danik Agustin P, M.Kes

*Breasts are one of the reproductive organs in women. Breast development is influenced by steroid hormones oestrogen and progesterone. Whereas in the mammary epithelium there are estrogen receptors. There are two estrogen receptors in the breast that is estrogen receptor α and estrogen receptor β . Tempeh is soy product that contains phytoestrogens and that can affect female reproduction. The purpose of this study was to investigate the effect of tempeh extract on the number of mammary ducts in rat (*Rattus norvegicus*) strain wistar with true experimental design. 28 rats with age 4 weeks divided into 4 groups with doses per day. Control (K); Treatment 1 (P1)= 7,5mg/200grBB; Treatment 2 (P2)= 15mg/200grBB; Treatment 3 (P3)= 30mg/200grBB. Tempeh extract given for 28 days. After that the mammary gland was taken and made preparations by coloring method Haematoxylin Eosin and then to be observed number of mammary ducts. Obtain result in the average number of mammary ducts K=50,55 \pm 3,23; P1=34,95 \pm 5,67; P2=46,83 \pm 11,25; and P3=44,50 \pm 5,75. The conclusion of this study, based on the results of One-Way ANOVA test shows the p-value is 0.122 ($p > 0.05$) which means no significant difference between the control group and the treatment group of tempeh extract*

Keyword: Phytoestrogens, tempeh extract, breast, mammary glands

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pubertas merupakan onset dari kehidupan seksual dewasa. Pada anak perempuan, pubertas sebagian besar merupakan respons tubuh terhadap kerja estrogen yang meluas, yang disekresi oleh ovarium yang baru aktif dibawah pengaruh hormon gonadotropin yang disekresi oleh hipofisis anterior. Menurut Guyton (2012) pubertas umumnya terjadi pada anak usia 8 sampai 13 tahun, dengan rerata terjadi pada usia 10 tahun. Tanda awal pubertas pada anak perempuan adalah perkembangan payudara atau *breast budding*, kemudian tumbuhnya rambut pubis (rambut kemaluan) dan diakhiri dengan menstruasi.

Jika pada anak perempuan tumbuh payudara pada usia kurang dari 8 tahun maka kemungkinan anak mengalami pubertas *prekoks* atau pubertas dini. Mammae adalah salah satu organ yang erat hubungannya dengan estrogen (Soesanti, 2015). Berdasarkan data Riskesdas tahun 2010 sekitar 5,2 % anak-anak di 17 provinsi Indonesia mengalami pubertas dini, dan Indonesia menempati urutan ke 15 dari 67 negara dengan kejadian penurunan usia menarche. Kejadian pubertas dini mengalami kenaikan disebabkan oleh berbagai macam faktor. Banyak faktor yang dapat mempengaruhi awitan pubertas antara lain ras, nutrisi, faktor genetik dan faktor lingkungan lainnya (Heffner, 2010).

Nutrisi merupakan salah satu faktor yang berperan terhadap terjadinya pubertas, Indonesia merupakan negara yang memiliki keanekaragaman sumber daya alam hayati. Tempe adalah salah satu produk olahan pangan yang berbahan

dasar kedelai yang banyak dikonsumsi masyarakat Indonesia baik dari balita hingga dewasa. Tempe memiliki berbagai macam kandungan gizi diantaranya vitamin B (tiamin), B2 (riboflavin), B3 (niasin), B6 (pirioksin), B12(sianokobalamin), dan asam pantotenat (Susianto, 2013). Pada umumnya rata-rata komposisi dari tempe terdiri dari 40% protein, 21% lemak, dan 34% karbohidrat. Konsumsi tempe rata-rata per orang per tahun di Indonesia saat ini diperkirakan mencapai sekitar 6,45 kg (BSN, 2012)

Tempe memiliki kandungan senyawa bernama fitoestrogen (Nadesul, 2008). Kandungan fitoestrogen terpenting adalah isoflavon yang memiliki unsur utama genistein dan daidzein (Horn et al, 2003). Isoflavon adalah salah satu fitoestrogen yang dapat menunjukkan efek estrogenik sehingga mampu mengaktifkan reseptor estrogen yang dimediasi signaling (Proverawati, 2010). Ikatan dengan reseptor estrogen ini disebabkan karena isoflavon memiliki kemiripan struktur dan fungsi yang mirip dengan estrogen. Namun, efek estrogenik yang berlebih kurang baik terhadap sistem reproduksi, zat estrogenik dikenal untuk mengubah fungsi endokrin, terutama ketika paparan terjadi selama periode kritis perkembangan(Tsurounis,2004).

Hormon stimulasi pertumbuhan payudara yang dominan adalah estrogen. Estrogen sangat penting untuk proliferasi dan diferensiasi epitel payudara serta bertindak secara lokal di kelenjar payudara untuk menstimulasi DNA, dan meningkatkan pembentukan bud (tunas) (Guyton,2012). Estrogen juga menstimulasi pertumbuhan duktus dan alveoli kelenjar mammae. Epitel duktus sensitif terhadap estrogen, dikarenakan terdapat ekspresi reseptor estrogen yang menstimulasi pertumbuhan, diferensiasi, dan perkembangan payudara. Paparan awal senyawa

dengan aktivitas mirip estrogen dapat mempercepat usia pubertas (Winarsi, 2005). Pada periode peripubertal ketika kadar estradiol endogen rendah, paparan fitoestrogen menyebabkan peningkatan sensitivitas kelenjar pituitary. Beberapa penelitian eksperimental pada hewan coba menunjukkan efek yang buruk dari isoflavon pada sistem reproduksi seperti kejadian pubertas dini, berkurangnya kesuburan, perubahan siklus estrus serta gangguan respon kelenjar pituitary terhadap GnRH (*gonadotropin releasing-hormone*) (Kim dan Park, 2012).

Pada penelitian sebelumnya, terdapat peningkatan yang bermakna terhadap perkembangan kelenjar mammae yang diberikan ekstrak etanol biji klabet yang mengandung fitoestrogen (Agustini,dkk ; 2007). Penelitian yang dilakukan oleh Wha Chung (2013), juga menunjukkan adanya peningkatan ukuran pada mammae dan terdapat peningkatan lobular pada struktur mammae dengan pemberian fitoestrogen tanpa menimbulkan efek samping yang signifikan. Pada penelitian lainnya, yaitu dengan pemberian susu kedelai pada tikus dapat meningkatkan ekspresi reseptor estrogen beta ($ER\beta$) pada sel epitel dan menunjukkan terjadinya peningkatan diameter lumen duktus mammae (Farantia, 2016).

Banyak penelitian yang mempelajari keuntungan dari fitoestrogen, namun karena mempunyai efek seperti estrogen, maka perlu dipelajari lebih lanjut apabila diberikan sejak dini. Efek dari isoflavon pada masa pubertas juga tergantung terhadap beberapa faktor, seperti jumlah dan seberapa banyak paparan; waktu dan lama paparan sehingga dapat mempengaruhi perkembangan organ-organ, terutama organ reproduksi; serta status estrogen endogen individu (Kim dan Park, 2012).

Oleh karena itu peneliti tertarik untuk membuktikan dengan hewan coba bahwa pemberian tempe pada tikus (*Rattus norvegicus*) betina dapat berpengaruh terhadap peningkatan jumlah duktus kelenjar susu.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah ekstrak tempe dapat meningkatkan jumlah duktus kelenjar susu pada payudara tikus putih betina (*Rattus norvegicus*) strain wistar?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk membuktikan pemberian ekstrak tempe dapat meningkatkan jumlah duktus kelenjar susu payudara tikus (*Rattus norvegicus*) betina.

1.3.2 Tujuan Khusus

- Membandingkan pengaruh jumlah duktus kelenjar susu tikus (*Rattus norvegicus*) betina yang diberi ekstrak tempe dengan kelompok kontrol.
- Membuktikan bahwa ada hubungan antara pemberian ekstrak tempe dengan jumlah duktus kelenjar susu tikus (*Rattus norvegicus*) betina.

1.4 Manfaat penelitian

1.4.1 Manfaat Akademik

- Turut menyumbang pengembangan ilmu pengetahuan di bidang kesehatan khususnya manfaat ekstrak tempe.
- Menambah referensi ilmiah yang dapat dijadikan kajian pustaka untuk penelitian atau penulisan karya ilmiah berikutnya yang terkait dengan efek ekstrak tempe.

1.4.3 Manfaat Praktis

- a. Memberikan dasar penggunaan tempe untuk penentuan berapa lama dan berapa jumlah yang dapat dikonsumsi oleh seseorang.



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pubertas Dini

Pubertas merupakan awal dimulainya kehidupan seksual dewasa. Periode pubertas terjadi karena kenaikan hormon gonadotropin oleh hipofisis. Usia pubertas bervariasi antara masing-masing individu, rata-rata pada umur 10,5-15,5 tahun (Soetjiningsih, 2004). Pada masa ini, merupakan masa terjadinya percepatan pertumbuhan dan perkembangan. Pada wanita, kelenjar hipofisis dan ovarium akan mampu menjalankan fungsinya secara penuh apabila dirangsang secara tepat (Syaifuddin, 2009). Pada anak wanita pubertas terlihat saat dimulainya perkembangan payudara pada usia 8 dan 10 tahun, serta mencapai puncaknya saat terjadi menstruasi (Heffner, 2010).

Pubertas terjadi karena mulai terangsangnya aksis hipotalamus-hipofise-gonad yang berpengaruh terhadap munculnya tanda seks sekunder, pertumbuhan somatik, dan perubahan psikosial. Pada saat pubertas terjadi perubahan struktur tubuh, perubahan yang terjadi pada pertumbuhan tersebut diikuti munculnya tanda-tanda seks primer dan sekunder. Pada remaja perempuan, ciri-ciri seks primer adalah terjadinya menstruasi sebagai tanda kematangan organ reproduksi. Pada ciri-ciri seks sekunder menghasilkan beberapa perubahan diantaranya: terjadinya *pubarche* yaitu munculnya rambut pubis, adanya *telarche* yaitu pertumbuhan payudara, puting susu membesar dan menonjol serta payudara menjadi lebih besar dan lebih bulat, peningkatan timbunan lemak di pinggul dan paha, pertumbuhan

rambut aksila, terjadi peningkatan percepatan pertumbuhan, dan terjadi peningkatan hormone estrogen. (Soetjiningsih,2004).

Definisi pubertas telah dijelaskan diatas, maka dapat di ambil kesimpulan jika pubertas dini adalah terjadinya perubahan fisik, perubahan psikosial, dan kematangan seksual yang terjadi cepat dari usia yang seharusnya, dimana bagi perempuan ditemukan tanda-tanda pubertas sebelum usia 8 tahun dan pada anak laki- laki sebelum usia 9 tahun (Soetjiningsih, 2004).

2.2 Tempe

2.2.1 Pengertian Tempe

Tempe adalah salah satu makanan tradisional khas Indonesia. Bahan utama dari tempe adalah kedelai, namun dapat juga berbahan dasar kacang-kacangan atau biji-bijian lainnya. Tempe kemudian diproses melalui fermentasi oleh ragi *Rhizopus sp*, terutama *Rhizopus oligosporus*, *R. oryzae*, *R. archizus*, *R. stolonifer*, dan *R. microsporus*. Tempe berbahan dasar kedelai merupakan tempe yang paling populer di masyarakat (Astuti, et al., 2000). Sebanyak 50% dari konsumsi kedelai Indonesia diproduksi sebagai tempe, sedangkan 40% tahu , dan 10% dalam bentuk olahan lain (seperti tauco, kecap, dan lain-lain). Konsumsi tempe rata-rata per orang per tahun di Indonesia saat ini diperkirakan mencapai sekitar 6,45 kg (BSN, 2012).

2.2.2 Kandungan Tempe

Hasil penelitian Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) menjelaskan adanya proses fermentasi pada pembuatan tempe menyebabkan peningkatan nilai asam lemak, vitamin, dan mineral. Saat proses fermentasi terbentuk enzim lipase pada tempe yang menghidrolisis sebagian lemak kedelai dan meningkatkannya

sebesar 30% atau 50-70 kali lebih tinggi asam lemak bebas dibanding dalam bentuk kedelai. Perubahan pada karbohidrat adalah dengan kenaikan serat yang mencapai 5,85% yang disebabkan oleh miselium cendawan yang mengandung serat dan kehilangan zat padat lain (Susianto, 2013).

Jumlah asam amino bebas pada tempe meningkat 1-85 kali dari kedelai, yaitu 7,3 -12 pada tempe. Kualitas protein dengan indikator efisiensi penggunaan protein sangat dipengaruhi oleh keseimbangan asam amino esensial. Kandungan protein yang ada pada tempe tinggi, sama dengan kasein susu skim dengan nilai PER (*protein efficiency ratio*) yaitu 2,45 dan 2,5 (Susianto, 2013)

Tempe di Indonesia, mengandung vitamin B12 sangat tinggi yang sangat diperlukan mereka yang menu sehari-harinya terdiri dari bahan nabati. Pada umumnya bahan nabati kurang atau tidak mengandung vitamin B12. Fermentasi kedelai menjadi tempe juga meningkatkan kandungan fosfor. Nilai gizi pada tempe memiliki komposisi yang lebih besar dibanding dengan kedelai. Komposisi nilai zat gizi tempe rata-rata dalam 100 gram adalah 149 kalori, terdiri dari 64% air, 18,3 % protein, 4% lemak, 12,7% karbohidrat, 0,129% kalsium, 0,154% fosfor, dan 0,01% zat besi (Santoso, 2005)

Tabel 2.1 Kandungan Nilai Gizi pada Tempe (BSN, 2012)

ZAT GIZI	SATUAN	Komposisi zat gizi 100 gram BDD	
		Kedelai	Tempe
Energi	(kal)	381	201
Protein	(gram)	40,4	20,8
Lemak	(gram)	16,7	8,8
Hidrat arang	(gram)	24,9	13,5
Serat	(gram)	3,2	1,4
Abu	(gram)	5,5	1,6
Kalsium	(mg)	222	155
Fosfor	(mg)	682	326
Besi	(mg)	10	4
Karotin	(mkg)	31	34
Vitamin B1	(gram)	0,52	0,19
Air	(gram)	12,7	55,3
BDD* (Berat yang dapat dimakan)	(%)	100	100

Sumber : Komposisi Zat Gizi Pangan Indonesia Departemen Kesehatan RI Dir.Bin.Gizi Masyarakat dan Puslitbang Gizi, 1991 dalam BSN, 2012

**Gambar 2.1 Tempe (Astuti,2002)**

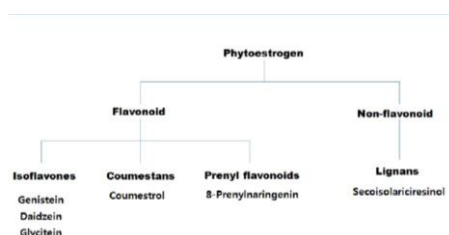
Proses fermentasi pada tempe juga meningkatkan nilai kandungan gizi. Pada penelitian Haron (2009) kandungan isoflavon pada tempe relatif lebih tinggi dibandingkan dengan produk olahan kedelai lainnya, seperti tahu dan minuman kedelai. Isoflavon yang terdapat pada tempe adalah daidzein dan genistein.

2.3 Fitoestrogen

2.3.1 Pengertian Fitoestrogen

Fitoestrogen adalah kelompok tanaman, baik biji-bijian, kacang-kacangan, sayuran, dan buah-buahan yang memiliki sifat khasiat menyerupai hormon estrogen. Fitoestrogen merupakan substansi yang memiliki tiga kelas utama yakni isoflavon (genistein, daidzein, glycitein, formononetin, equol, dan biochanin A), lignan (enterolactone, enterodiol), para coumestanes (coumesterol), flavonoid (quercetin, kaempferol), para stilbenes (resveratrol) dan mikotosin (zearelenol). Isoflavon (genistein, daidzein) dan beberapa flavon, flavonon dan flavonol (apigenin, kaempferol dan naringenin) menunjukkan efek estrogenik serta mampu mengaktifkan reseptor estrogen yang di mediasi signaling (Moutsatsou, 2007; Proverawati, 2010).

Fitoestrogen diketahui memiliki struktur dan fungsi yang hampir sama dengan estrogen. Fitoestrogen dapat bekerja dalam tubuh sebagai selective estrogen receptor modulators (SERMs) yaitu fitoestrogen dapat memberikan efek estrogenik dan efek antiestrogenik. Apabila tubuh kekurangan estrogen Fitoestrogen akan memberikan efek estrogenik sehingga dapat berikatan dengan reseptor estrogen, sedangkan jika tubuh memiliki kadar estrogen tinggi dalam tubuh maka fitoestrogen memberikan efek antiestrogenik (Zhang Li et al, 2009).



Gambar 2.2 Klasifikasi fitoestrogen (Kim and Park, 2012)

2.3.2 Isoflavon

Isoflavon merupakan fitoestrogen yang terpenting menurut perspektif nutrisi dan kesehatan dan kelas fitoestrogen yang saat ini diminati (Cvejic, 2012). Isoflavon juga merupakan salah satu dari tiga kelas utama pada fitoestrogen. Isoflavon dan derivatnya merupakan senyawa yang diketahui berfungsi sebagai antioksidan, antitumor, antisklerosis. Kedelai (*Glycine max*) dan produk kedelai adalah sumber yang paling penting dari senyawa ini dalam makanan manusia. kedelai mengandung 12 fitoestrogen yang berbeda termasuk daidzein, genistein, dan glisitein. Kandungan isoflavon pada kedelai ditemukan sekitar 0,1-0,4% berat kering, atau berkisar 2-4 mg/g kedelai. Jenis senyawa isoflavon ini terutama genistein, daidzein, dan glitsein (Atun,2009).

Kedelai biasanya dapat dikonsumsi menjadi dua kelompok : makanan yang difermentasi, dan tidak difermentasi termasuk kedelai segar, kecambah kedelai, susu kedelai, tahu, tepung protein kedelai, miso, natto, kecap, dan tempe. kandungan isoflavon pada kedelai fermentasi seperti tempe, pasta kacang, dan miso mengandung total isoflavon dari 0,034 sampai 0,289 mg/g. Hal ini diamati bahwa makanan kedelai fermentasi memiliki aglycons sebagai bentuk utama, diperkirakan akibat adanya hidrolisis selama fermentasi. (Cvejic,2012).

Pada tempe menunjukkan kandungan isoflavon yang lebih tinggi akibat reaksi metabolisme secara anaerob oleh jamur *Rhizopus oligosporus* yang dapat mengubah senyawa flavonoid menjadi isoflavonoid. Total isoflavon pada tempe mentah mengandung 26 ± 6 mg daidzein (Da) dan 28 ± 11 mg genistein (Ge) (Haron, et al., 2009)

Isoflavon di alam ditemukan dalam bentuk glikosida berupa daidzein genistein, glitsein, acetyldaidzin, dan acetylgenistin. Selain bentuk glikosida isoflavon juga ditemukan dalam bentuk aglikonnya yaitu daidzein, genistein, dan glitsein (Winarsih, 2005). Proses fermentasi juga dapat menghidrolisis senyawa-senyawa flavon glikosida menjadi aglikon, yang menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi. Senyawa isoflavon aglikon ini dapat mengalami transformasi lebih lanjut membentuk senyawa transforman baru. Hasil transformasi lebih lanjut menghasilkan senyawa-senyawa yang mempunyai aktivitas biologi lebih tinggi (Atun, 2009).

Fig. 1. Classification of phytoestrogens.

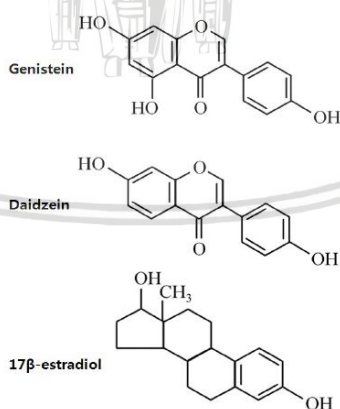


Fig. 2. Molecular structure of isoflavones.

Gambar 2.3 Struktur Molekul Isoflavon (Kim and Park,2012)

2.3.3 Cara Kerja Isoflavon

Isoflavon merupakan kelompok fitoestrogen yang dapat memberi efek melalui berbagai macam variasi mekanisme. Tindakan yang paling ditandai melibatkan kapasitas isoflavon untuk mengikat kedua reseptor estrogen (ER) ER α dan/ ER β untuk meniru aksi estrogenik. Isoflavon mengikat dan mengaktifkan transkripsi gen yang bergantung pada ER melalui isoform ER. Reseptor estrogen yang akan memberikan respon biologi atau aktivitas hormonal. Struktur dari isoflavon hampir sama dengan estrogen, adanya dua cincin fenolik pada isoflavon memungkinkan untuk mengikat senyawa estrogen receptor (ERs) (Cederroth, 2011; Kim and Park, 2012).

Aktivitas biologis “estrogen-like” dari fitoestrogen berasal dari struktur yang memiliki kesamaan dengan estrogen manusia dan juga akibat kemampuan mengikat ke reseptor estrogen. Senyawa ini bisa bertindak sebagai agonis estrogen dan antagonis (Cjevic, 2012). Isoflavon mengeluarkan efek pada sejumlah target organ yang memiliki ER α dan/ ER β . Walaupun afinitas pengikatan ER α dan/ ER β oleh isoflavon lebih rendah dari 17 β -estradiol mereka Isoflavon tetap dapat mampu untuk berikatan dengan reseptor alpha dan reseptor beta. Umumnya dengan afinitas yang lebih tinggi untuk ER β daripada ER α (Kim and Park, 2012).

Ekspresi ER β tertinggi pada sel granulosa ovarium dan saluran gastrointestinal, sedangkan sedang sampai rendah pada spermatid, prostat, epididimis, kelenjar susu wanita, hipotalamus, dan kelenjar pituitary. Struktur isoflavon sangat mirip dengan estrogen. kehadiran 2 cincin fenolik dalam isoflavon memungkinkan senyawa ini untuk mengikat ERs. Afinitas pengikatan genistein untuk

ER β adalah 87%, sedangkan untuk ER α adalah 4%, sedangkan daidzein untuk ER β dan ER α masing-masing 0,5% dan 0,1% (Kim and Park, 2012).

2.4 Payudara

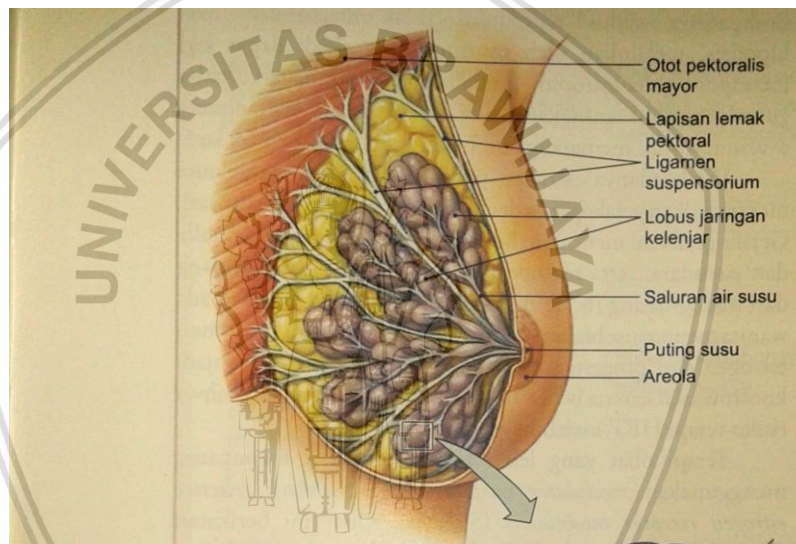
2.4.1 Anatomi Payudara

Payudara (*mammæ*) terdapat dalam fasia superfasialis dinding toraks ventral yang terdiri dari payudara kanan dan payudara kiri dan berisi glandula mammaria. Payudara wanita berbentuk mendekati lingkaran yang pada arah kraniokaudal terbentang antara costae II sampai costae VI pada arah melintang terbentang 8 dari tepi lateral sternum sampai linea medioklavikula. Payudara berisi 20 saluran glandula mammaria yang masing-masing memiliki saluran dalam bentuk duktus laktiferus (Moore dan Agus, 2002). Payudara adalah organ yang berperan dalam proses laktasi. Payudara terdiri dari atas dua jaringan glandular(kelenjar) meliputi kelenjar susu (lobus), serta salurannya (duktus) dan jaringan stromal (penopang) meliputi jaringan lemak serta jaringan ikat (Haryono et al, 2011). Pada umumnya payudara berdiameter $\pm 10\text{-}12\text{cm}$ dan beratnya $\pm 200\text{gr}$ (saat tidak hamil/menyusui) (Astutik,2014).

Setelah menarke, pajanan terhadap progesterone siklis menginduksi pertumbuhan lobulus yang rudimenter pada ujung duktus. Epitel duktus tetap sensitif terhadap estrogen selama tahun-tahun reproduksi wanita. Jaringan stroma tetap sensitif terhadap stimulasi progesterone. Pada onset pubertas, estrogen ovarium menginduksi pertumbuhan sistem duktus laktiferus. Duktus-duktus ini bercabang-cabang selama pertumbuhannya dan ujung duktus ini membentuk sel kecil dan padat. Payudara terus membesar selama beberapa tahun setelah menarke bersamaan dengan duktus laktiferus yang secara progresif bercabang-cabang,

memanjang, dan berlumen, serta jaringan adipose yang berakumulasi (Heffner, 2010)

Pada saat pubertas terjadi perkembangan payudara secara penuh. Perkembangan dan aktivitas pada payudara wanita sepenuhnya tergantung pada hormon. Estrogen selanjutnya disekresikan pada puncak nya (semakin melebar/ stagnan) mengalami pelebaran dan sistem duktus nya semakin kompleks (Lowe, 2008).



Gambar 2.4 Anatomi Payudara (Silverthorn, 2013)

2.4.2 Histologi Payudara

Setiap kelenjar payudara terdiri dari 15-20 lobus dari jenis tubuloalveolar kompleks, yang berfungsi menyekresi air susu bagi neonatus. Setiap lobus dipisahkan satu sama lain oleh jaringan ikat padat dan jaringan lemak (Junqueira dan Carneiro, 2007). Dalam lobus payudara terdapat lobulus-lobulus yang terdiri dari duktus intralobularis yang dilapisi epitel kuboid atau kolumnar rendah dan pada

bagian dasar terdapat mioepitel kontraktile. pada duktus intralobularis mengandung banyak pembuluh darah, venula, dan arteriol (Eroschenko, 2008).

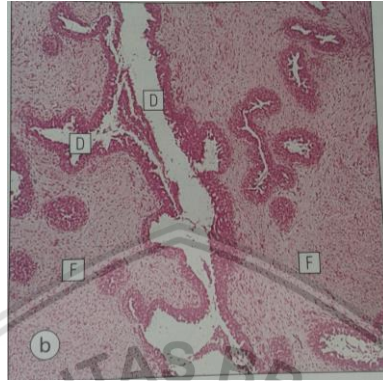
Setiap lobus terdapat dalam jaringan ikat longgar, suatu jaringan ikat yang kurang padat dan kurang banyak mengandung sel, memisahkan lobus-lobus. Dekat dengan muara papilla mammae, duktus laktiferus menjadi lebar membentuk sinus laktifrus dan duktus terminal merupakan epitel selapis kuboid dan dibungkus sel mioepitel yang berhimpitan (Junqueira dan Carneiro, 2007).

Proses perkembangan sistem duktus dan asini disebut branching morphogenesis dan dimulai sejak janin, berhenti pada masa kanak-kanak, dan dibawah stimulasi hormonal pada saat pubertas memicu diferensiasi lebih lanjut. Di bawah pengaruh hormon, terjadi interaksi timbal balik yang kompleks antara epitel dan mesenkim sehingga menyebabkan diferensiasi dari struktur yang belum matang saat prenatal menjadi bentuk kelenjar susu dewasa (Heffner, 2010).

Pembesaran payudara selama pubertas terjadi akibat penimbunan jaringan lemak dan jaringan ikat, dengan meningkatnya pertumbuhan dan percabangan duktus laktiferus akibat bertambahnya jumlah estrogen ovarium. Selama pubertas, epitel terbentuk menjadi struktur duktus bercabang dan bilayer, yang terdiri dari lapisan mioepitel basal bagian luar sel dan lapisan sel luminal pada bagian dalam yang dapat dibagi lebih jauh menjadi sel luminal duktal, yang mana pada saat menyusui akan mengeluarkan susu. Pada setiap siklus haid terjadi ekspansi alveoli, namun signifikansi lebih banyak terjadi saat kehamilan (Javed, et al., 2013).

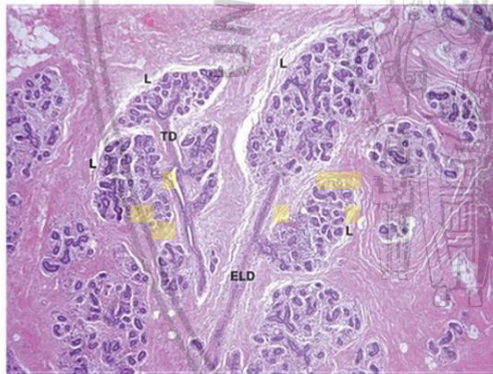
Struktur histologi kelenjar ini mengalami sedikit perubahan selama siklus menstruasi misalnya proliferasi sel duktus di sekitar masa ovulasi. Perubahan ini

bertepatan dengan saat ketika kadar estrogen yang beredar mencapai puncaknya. Bertambahnya cairan jaringan ikat pada fase pra-menstruasi menambah besar payudara.



Gambar 2.5 Perkembangan payudara (Lowe,2008)

(b) Mikrograf jaringan payudara dari seorang gadis berusia 11 tahun pada awal pubertas. Sistem ductular (D) mulai berkembang biak dan menghasilkan cabang, dan jaringan pendukung fibrokolagenus disekitarnya (F) secara aktif meningkat secara massal



Gambar 2.6 Mikro anatomi jaringan payudara (Schnitt, 2012)

Terminal ducts (TD), Lobules (L), dan extralobular ducts (ELD).



Gambar 2.7 Kelenjar mammae tikus (Treuting et al.,2012)

kelenjar mammae tikus memiliki duktus laktiferus tunggal, cabang duktus tanpa pembentukan lobulus terpisah, pada tikus nulipara digambarkan terminal duktus tanpa unit lobuloalveolar



2.5 Pengaruh Fitoestrogen terhadap Payudara

Struktur fitoestrogen memiliki kemiripan polaritas dan berat molekul yang sama dengan estradiol. Fitur penting dari struktur kimia fitoestrogen terdapat adanya cincin fenolik yang umumnya merupakan prasyarat untuk mengikat estrogen reseptor (ER). Dalam struktur isoflavon, cincin A dan C mirip dengan cincin A dan B di estradiol. Sebagai senyawa bioaktif secara struktural mirip dengan estrogen, fitoestrogen memiliki kemampuan untuk mengikat reseptor, baik mengaktifkan atau memblokir, tergantung pada jenis reseptor estrogen (Cvejic, 2012).

Efek dari fitoestrogen telah ditunjukkan yaitu dapat sebagai agonis atau antagonis tergantung dari konsentrasi estrogen sendiri atau konsentrasi estrogen lingkungannya. Isoflavon akan berikatan dengan reseptor estrogen sehingga menghasilkan efek estrogenik yang mirip dengan estrogen endogen. Pada konsentrasi rendah, genistein bertindak sebagai agonis, sedangkan pada lingkungan estrogen tinggi berperan sebagai antagonis (Kim dan Park, 2012).

Afinitas ikatan genistein reseptor estrogen beta ($ER\beta$) lebih besar daripada reseptor estrogen alpha ($ER\alpha$). Kerja genistein pada payudara lebih dominan berikatan dengan reseptor beta, dan bertindak sebagai agonis, dikarenakan ekspresi reseptor estrogen beta ($ER\beta$) pada payudara berada pada lingkungan dengan konsentrasi sedang sampai rendah (Kim dan Park, 2012).

a. Mekanisme Genomik, (Aktivasi / Inaktivasi ER)

Mekanisme genomik pada fitoestrogen melalui 2 cara yaitu: (1) fitoestrogen langsung berikatan dengan reseptor estrogen berupa transkripsi gen sehingga dapat menimbulkan efek seperti estrogen (efek estrogenik), (2) fitoestrogen tidak langsung berikatan dengan reseptor estrogen (*indirect genomic*) dengan mempengaruhi kadar estrogen endogen dalam sirkulasi (mekanisme kompetitif inhibitor) (Sutrisno, 2010).

Aksi genomik melibatkan reseptor estrogen yang terletak di nucleus (nuclear receptor) atau inti sel. Estrogen dibawa ke jaringan dalam bentuk terikat dengan protein dan segera berdifusi ke dalam sebagai sel sebagai estrogen bebas. Ikatan antara ligan dan reseptor atau molekul agonis menyebabkan perubahan formasi pada reseptor estrogen dan akan mengalami dimerisasi kemudian berikatan dengan Estrogen Response Element (ERE) pada gen target dan selanjutnya mengatur terjadinya proses transkripsi gen (Losel et al, 2003).

b. Mekanisme Non-Genomik (Aktivasi tidak langsung melalui estrogen reseptor)

Aksi non genomik melibatkan reseptor estrogen yang berada di luar nucleus (*extranuclear*) dalam hal ini adalah reseptor estrogen yang berada di membran sel dan sitosol (Razzandi et al., 2002). Pengaruh isoflavon tergantung pada tingkat estradiol endogen. Estrogen eksogen mempengaruhi target melalui jalur genomik atau non-genomik klasik. Kemiripannya dengan hormon estrogen endogen, mengakibatkan senyawa ini dapat berikatan dengan reseptor nucleus.

Estrogen berperan melalui reseptor ekstra nucleus dengan berinteraksi langsung dengan faktor pertumbuhan lain yaitu reseptor epidermal growth factor (EGF). EGF diduga kuat berperan dalam proliferasi epitel duktus kelenjar payudara.

Estrogen berikatan dengan reseptor estrogen α (ER α) yang kemudian akan mengaktifkan faktor parakrin untuk menginduksi sel-sel epitel. Protein hasil sintesis tersebut diperlukan dalam proses mitosis pada sel-sel epitel. Mitosis yang terjadi pada setiap sel epitel kemudian akan menyebabkan epitel berproliferasi sampai batas optimum (Kusmana et al., 2007).

2.6 Tikus *Rattus norvegicus*

Tikus yang sering digunakan sebagai hewan percobaan merupakan strain albino dari *Rattus norvegicus*. Tikus adalah hewan yang memiliki respon alami ataupun respon buatan dan memiliki sifat atau karakteristik yang mirip (sebagian atau keseluruhan) dengan yang terjadi pada manusia (Putra, 2009). Zat-zat gizi yang diperlukan untuk pertumbuhan tikus hampir mirip sama dengan manusia yaitu : 1) Karbohidrat, terdiri dari pati, gula, dan selulosa, 2) minyak/lemak, asam esensial (terutama linoleat dan linolenat), bila kekurangan asam lemak esensial kulitnya bersisik, pertumbuhannya terhambat, dan dapat menimbulkan kematian, 3) protein, asam-asam amino esensial bagi tikus ada 10 macam, yaitu : lisin, triptofan, histidin, fenilalanin, leusin, isoleusin, treonin, metionin, valin, dan arginine, 4) mineral atau elemen anorganik terdiri dari makro elemen: Ca, P, Mg, K, Na, Cl, S serta mikro elemen: Fe, Sn, Co, Mn, Se, I, Zn, Mo, 5) Vitamin terdiri dari vitamin larut lemak (A, D, E, dan K) serta vitamin larut air (tiamin/B1, riboflavin, niasin/asam nikotinat, piridoksin/B6, asam pantotemat, asam folat, sianokobalamin/B12, kolin, dan biotin) (Kusumawati, 2004).

Klasifikasi *Rattus norvegicus* strain wistar menurut nomenklatur adalah sebagai berikut :

Nama ilmiah	: <i>Rattus norvegicus</i>
Strain	: Wistar
Berat badan dewasa	: Betina 180-220 gram
Rentang usia	: 2-3 tahun
Usia awal kawin	: Betina 8-10 minggu
Siklus estrus	: 4-5 hari
Durasi estrus	: 9-20 jam
Konsumsi makanan	: 15-30 g/hari (dewasa)
Konsumsi air	: 0-45 ml/hari (dewasa)



Gambar 2.8 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) (Akbar,2010)

2.6.1 Siklus Reproduksi Hewan Coba

Akbar (2010) menyebutkan bahwa siklus estrus merupakan siklus reproduksi dari hewan mamalia betina dewasa, pada primate dan manusia siklus ini disebut siklus menstruasi. Siklus estrus ini juga merupakan cerminan dari berbagai aktivitas yang saling berkaitan antara hipotalamus, hipofisis dan ovarium. Selama siklus estrus terjadi berbagai perubahan baik pada organ reproduksi maupun pada

perubahan tingkah laku seksual. Siklus estrus berlangsung selama 4-5 hari, setiap fase daur estrus dapat dikenali melalui pemeriksaan apus vagina. Siklus estrus dapat dipengaruhi oleh faktor-faktor eksteroseptif seperti cahaya, suhu, status nutrisi dan hubungan sosial (Nadjamudin dkk. 2010). Siklus estrus terdiri dari 4 fase utama , yakni sebagai berikut :

1. Fase proestrus

merupakan fase sebelum estrus yaitu periode dimana folikel ovarium tumbuh menjadi folikel *de graaf* dibawah pengaruh FSH. Fase ini berlangsung 12 jam, setiap folikel mengalami pertumbuhan yang cepat dalam 2-3 hari sebelum estrus. Pada fase ini terjadi perubahan – perubahan fisiologis dan saraf, disertai kelakuan birahi pada hewan-hewan betina peliharaan. Ini terjadi dikarenakan sistem reproduksi memulai persiapan untuk pelepasan ovum dari ovarium yang membuat sekresi estrogen dalam darah semakin meningkat (Akbar, 2010).

2. Fase Estrus

adalah fase yang ditandai oleh penerimaan pejantan oleh hewan betina untuk berkopulasi, Fase ini berlangsung selama 12 jam. Folikel *de graaf* membesar dan menjadi matang serta ovum mengalami perubahan – perubahan kearah pematangan. Peningkatan kadar estrogen pada fase ini mempengaruhi aktivitas hewan, seperti telinganya selalu bergerak-gerak dan punggung lordosis. Ovulasi hanya terjadi pada fase ini dan terjadi menjelang fase estrus.

3. Fase Metestrus

adalah periode segera sesudah estrus. saat fase ini *corpus luteum* tumbuh lebih cepat dari sel granulosa folikel yang telah pecah dibawah pengaruh LH dan *adenohypophysis*. Pengaruh progesterone yang dihasilkan corpus luteum sebagian besar berada periode metestrus. Progesterone menghambat sekresi FSH oleh *adenohypophysis* sehingga menghambat pertumbuhan folikel de graaf yang lain dan mencegah terjadinya estrus. Fase ini berlangsung selama 21 jam.

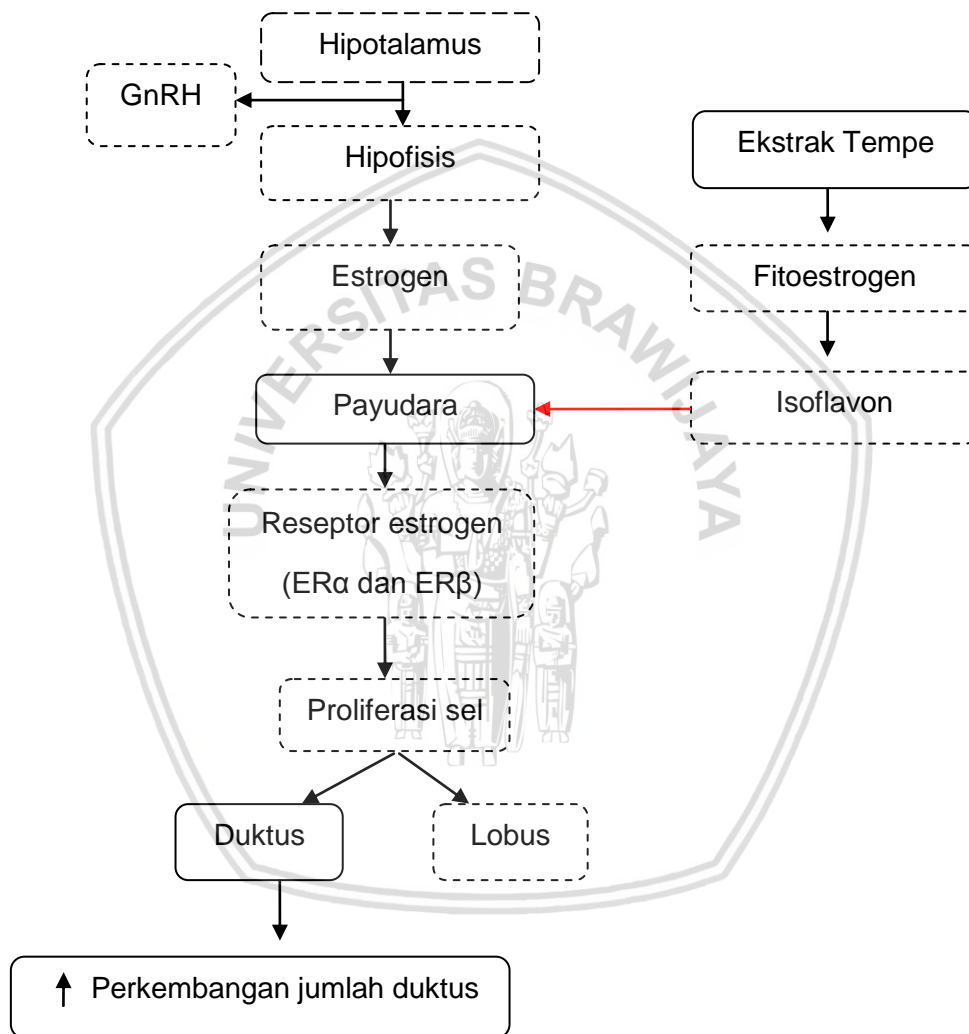
4. Fase Diestrus

fase ini merupakan periode terakhir dan terlama siklus birahi pada ternak dan mamalia. fase ini berlangsung selama 48 jam. Terjadi penutupan serviks dan lendir vagina mulai kabur dan lengket. selaput mukosa vagina pucat dan otot uterus mengendor. pada akhir periode ini *corpus luteum* memperlihatkan perubahan-perubahan retrogresif dan vakualisasi secara gradual. endometrium dan kelenjar-kelenjar nya berubah ke ukuran semula. Mulai terjadi perkembangan folikel – folikel primer dan sekunder dan akhirnya kembali ke fase proestrus (Karlina, 2003).

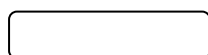
BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESA PENELITIAN

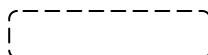
3.1 Kerangka Konsep



Keterangan:



: diteliti



: tidak diteliti



: mempengaruhi / meningkatkan

3.2 Penjelasan Kerangka Konsep

gonadotropin releasing hormone (GnRH) dikeluarkan oleh hipotalamus untuk merangsang kelenjar pituitary anterior mensekresikan hormon steroid. Estrogen merupakan salah satu hormon steroid yang disekresikan menuju jaringan target salah satunya payudara. Fungsi payudara, juga tergantung pada hormon steroid estrogen dan progesterone, dimana reseptor keduanya terdapat pada epitel mammae dari duktus terminal (Lowe, 2008). Pada payudara terdapat dua estrogen reseptor (ER) yaitu ER α dan ER β yang dapat berikatan dengan estrogen sehingga dapat menghasilkan efek antagonis maupun agonis yang dapat berpengaruh terhadap duktus payudara.

Tempe merupakan salah satu produk olahan kedelai yang diproses melalui proses fermentasi. Pada tempe terdapat kandungan fitoestrogen, dimana fitoestrogen memiliki struktur dan fungsi yang hampir sama dengan estrogen tubuh, salah satu kelompok fitoestrogen adalah isoflavon. Isoflavon pada tempe lebih tinggi dari pada produk olahan kedelai lainnya yakni total isoflavon pada tempe mentah mengandung 26+_6mg daidzein (Da) dan 28+_11 mg genistein (Ge) (Haron, et al., 2009). Ini diharapkan mampu merangsang peningkatan jumlah duktus kelenjar susu payudara. Ikatan antara fitoestrogen dan reseptor estrogen akan menghasilkan efek estrogenik atau *estrogen-like response*. Fitoestrogen lebih mudah berikatan dengan ER β . Peningkatan jumlah duktus kelenjar susu dipengaruhi oleh adanya cincin fenolik yang memungkinkan fitoestrogen untuk mengikat estrogen reseptor (ER). Untuk membuktikan

kandungan fitoestrogen yang terdapat pada tempe maka dilakukan penelitian terhadap hewan coba yaitu tikus strain wistar (*Rattus norvegicus*). Peneliti ingin membuktikan pemberian ekstrak tempe dimana mengandung fitoestrogen dapat meningkatkan jumlah duktus kelenjar susu tikus (*Rattus norvegicus*).

3.3 Hipotesa Penelitian

Ekstrak tempe berbagai dosis berpengaruh terhadap peningkatan jumlah duktus kelenjar susu payudara tikus (*Rattus norvegicus*).



BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain penelitian *true eksperimental design*, yaitu desain penelitian eksperimen yang menyelidiki kemungkinan hubungan sebab akibat dimana secara nyata terdapat kelompok perlakuan dan kelompok kontrol, dan membandingkan hasil perlakuan dengan kontrol yang tidak dikenai kondisi perlakuan. Dengan pendekatan *post test only control group design* adalah salah satu jenis pendekatan pada *true eksperimental* dimana fenomena yang terjadi akibat adanya perlakuan atau intervensi dari peneliti (respon) hanya diamati setelah perlakuan atau intervensi tersebut diberikan.

4.2 Populasi dan Sampel Penelitian

4.2.1 Populasi Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar jenis kelamin betina. Karakteristik dari populasi adalah sehat, aktif, dan tidak cacat.

4.2.2 Sampel Penelitian

Sampel adalah bagian dari populasi yang dijadikan obyek dan sumber informasi data serta informasi dalam penelitian yang mewakili atau representatif (Sugiyono, 2005). Hewan coba berupa tikus putih Strain Wistar (*Rattus norvegicus*) diperoleh dari Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Tikus putih dipilih sebagai sampel dalam penelitian karena sifatnya yang baik, relatif mudah dipelihara,

merupakan hewan yang relative sehat dan cocok digunakan dalam berbagai jenis penelitian. Selain itu dibutuhkan kriteria inklusi, eklusi, serta pembagian kelompok hewan coba :

a. Kriteria Inklusi

Untuk menjaga homogenitas sampel maka diberlakukan kriteria inklusi sebagai berikut:

- 1) Jenis Kelamin Betina
- 2) Umur 4 minggu
- 3) Tikus Sehat (aktif bergerak, tidak cacat dan tidak ditemukan luka di tubuh)

b. Kriteria Ekslusi

- 1) Tikus tampak sakit sebelum perlakuan (karena infeksi dan diare)
- 2) Tikus bunting/hamil
- 3) Tikus yang digunakan pada penelitian sebelumnya
- 4) Tikus mati pada saat proses penelitian berlangsung

c. Pembagian Kelompok Hewan Coba

Tikus yang telah sesuai dengan kriteria inklusi dibagi menjadi 4 kelompok yang terdiri dari 3 kelompok perlakuan dan 1 kelompok kontrol, yang masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor tikus. Pembagian

kelompok tikus dilakukan dengan secara acak (simple randomized sampling). Dosis yang digunakan mengadaptasi dari penelitian oleh Prabowo (2014). Pembagian kelompok tikus tersebut adalah sebagai berikut :

- 1) Kelompok control (+) : kelompok tikus yang diberi suplementasi normal tanpa diberikan suplementasi ekstrak tempe
- 2) Kelompok perlakuan 1 : Kelompok tikus yang diberikan suplementasi ekstrak tempe dengan dosis 7,5 mg/kgBB/hari
- 3) Kelompok perlakuan 2 : Kelompok tikus yang diberikan suplementasi ekstrak tempe dengan dosis 15 mg/KgBB/hari
- 4) Kelompok perlakuan 3 : Kelompok tikus yang diberikan suplementasi ekstrak tempe dengan dosis 30 mg/KgBB/hari

Jumlah sampel yang dipakai dalam setiap kelompok dihitung menggunakan rumus Steel dan Torrie (1991), sebagai berikut :

$$n = \left[\frac{(Z_{1/2\alpha} + Z_{\beta}) \sigma}{\delta} \right]^2$$

Diasumsikan $\sigma^2 \approx \delta^2$, sehingga hasilnya:

$$n = (Z_{1/2\alpha} + Z_{\beta})^2$$

$$n = (1,645 + 0,842)^2 = 6,185 \text{ dibulatkan menjadi } 6.$$

Keterangan:

n = besar sampel masing-masing kelompok.

$Z_{1/2\alpha}$ = nilai standar normal, yang besarnya tergantung α , bila $\alpha = 0,05$,

maka $Z_{1/2\alpha} = 1.645$.

Z_{β} = nilai tergantung β yang ditentukan (berdasarkan tabel), harga standar $\beta 0,2 = 0,84$

Berdasarkan rumus diatas maka ditentukan besar sampel adalah 6. Eksperimen ini memiliki 4 kelompok perlakuan, dan setiap kelompok memiliki masing-masing 1 ekor tikus cadangan sehingga jumlah keseluruhan sampel yang diperlukan menjadi 4×7 menjadi 28 ekor.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel Bebas

Pemberian ekstrak tempe dalam berbagai dosis 7,5 mg/200grBB/hari ;
15 mg/200grBB/hari; 30 mg/200grBB/hari

4.3.2 Variabel tergantung

Jumlah duktus kelenjar susu tikus strain wistar (*Rattus norvegicus*)

4.4 Definisi Istilah/Operasional

1. Tempe :

Tempe adalah salah satu produk olahan kedelai yang telah melalui proses ekstraksi menggunakan etanol 70%, ekstraksi dilakukan di Laboratorium Farmakologi FK UB. Tempe kedelai diperoleh dari Sanan, Malang, Jawa Timur serta diambil dari bongkahan yang sama.

2. Jumlah duktus kelenjar susu

Jaringan kelenjar susu tikus didapatkan dari pembedahan tikus dan menggunakan pewarnaan Hematoxylin Eosin. Jumlah duktus kelenjar

susu tikus dilihat dan dihitung menggunakan pengamatan kamera dot slide dengan pembesaran 200 kali.

4.5 Lokasi dan Waktu Penelitian

4.5.1 Lokasi Penelitian

- a. Laboratorium Farmakologi FKUB untuk pemeliharaan hewan coba yaitu tikus *Rattus norvegicus* dan pengestrakan tempe.
- b. Laboratorium Patologi Anatomi FKUB untuk pembuatan preparat dengan pewarnaan HE serta penghitungan jumlah duktus kelenjar susu

4.5.2 Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan mulai bulan September sampai November 2017, dengan rincian : selama 7 hari aklimatisasi, 28 hari untuk waktu perlakuan, dan selanjutnya digunakan untuk penganalisisan data.

4.6 Bahan dan Alat/ Instrumen Penelitian

- a. Alat dan Bahan untuk Pemeliharaan Tikus
 1. kandang tikus berupa boks plastik berukuran 20x30x40 cm sebanyak 5 buah diisi dengan sekam sebagai alas dan ditutup dengan kawat berjaring. masing – masing kandang diisi 6 tikus
 2. Tempat minum di masing-masing kandang
- b. Alat menimbang tikus
 1. Timbangan atau neraca digital
 2. Log Book

- c. Alat dan Bahan Ekstrak Tempe
 - 1. Bahan : 3 Kg Tempe yang diperoleh dari Sanan, Malang, Jawa Timur
 - 2. Alat :
 - a. Timbangan
 - b. Pengaduk
 - c. Blender
 - d. Kertas saring Whatman
 - e. Rotary evaporator
 - f. Oven
- d. Alat Pemberian Ekstrak Tempe Kepada Hewan Coba
 - 1. Botol dengan penutup
 - 2. Spuit 1 ml
 - 3. Spuit yang ujungnya dipasang platina (sonde)
- e. Alat dan Bahan untuk Swab Vagina
 - 1. Alat: pH indikator strip MERCK, *cotton swab*
 - 2. Bahan: secret mukosa vagina yang berada di introitus vagina tikus
- f. Alat untuk Pengambilan Jaringan Payudara Tikus
 - 1. Alat bedah minor (gunting, pinset, klem, pemegang jaringan)
 - 2. Wadah kecil sebagai tempat penyimpanan jaringan sementara sebelum dibuat preparat histologi
 - 3. Papan untuk meja pembedahan

4. Handscoon

5. Buffer formalin 10%

g. Alat dan Bahan untuk Pembuatan Sediaan Histologi

Membuat sediaan yang digunakan untuk pemeriksaan histologi dibutuhkan alat dan bahan antara lain :

1. Bahan :

- a. Sediaan organ payudara tikus
- b. Formalin 10%
- c. Cat utama Haris Hematoksilin
- d. Cat Pembanding Eosin 1%
- e. Amonia Air
- f. Alkohol Asam
- g. Xylol
- h. Alkohol (70%, 80%, 96%, Absolut)
- i. Entellan
- j. Parafin Cair
- k. Aquades

2. Alat :

- a. Mikrotom
- b. Pisau pemotong preparat gross

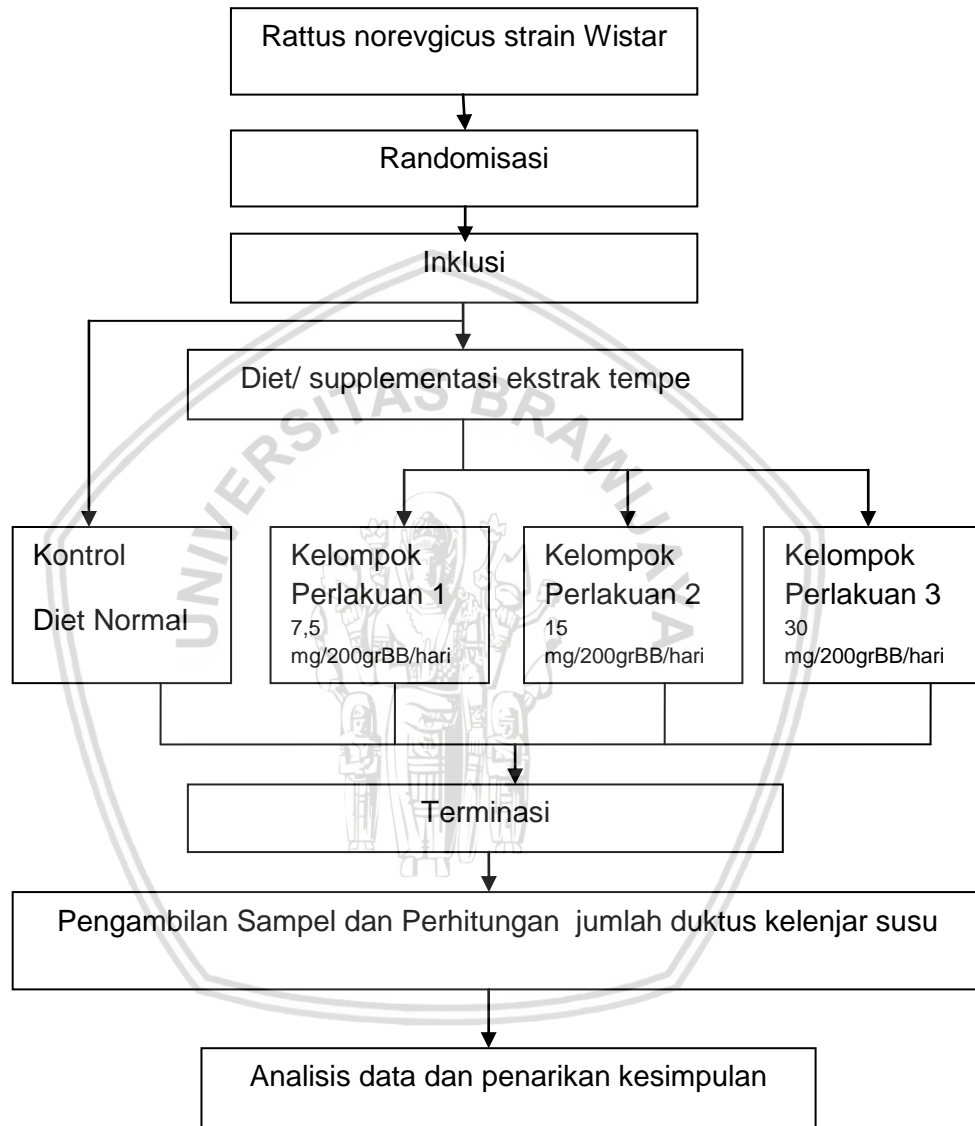
- c. *Object glass*
- d. *Cover glass*
- e. *Tissue Tex Processor*
- f. Oven
- g. Kaset
- h. Alat Pengukuran Duktus Kelenjar Susu

Dot slide mikroskop pencahayaan Olympus XC 10 dengan software Olyvia



4.7 Prosedur Penelitian/ Pengumpulan Data

4.7.1 Alur Penelitian



Gambar 4.1 Alur Penelitian

4.7.2 Prosedur Persiapan Hewan Coba

1. Pemeliharaan tikus mulai dari kandang pemeliharaan hewan coba terbuat dari plastik, berukuran 20x30x40cm, ditutup dengan anyaman kawat, dialasi sekam setebal 1 cm dan diganti 2 kali tiap minggu. Di dalam kandang terdapat pakan standar yang dibuat dari campuran produk pakan ternak dengan tepung terigu dengan perbandingan 3 banding 1 dengan kandungan vitamin B1, Vitamin B2, Asam folat, Zat Besi dan Zn. Pakan standar per hari yang disediakan adalah 40g/hari dan minuman dengan botol minuman dengan kebutuhan 60ml/ekor/hari.
2. Tikus diadaptasikan selama 1 minggu pada temperature kandang 20-28°C, tikus dibiarkan dalam kandang tanpa diberi perlakuan dengan tujuan untuk pengkondisian hewan dengan suasana laboratorium dan tetap diberikan makan dan minum secara *ad libitum*.
3. Tikus dibagi dalam empat kelompok perlakuan, yaitu kelompok control (K), Kelompok perlakuan 1 (P1), kelompok perlakuan 2 (P2), kelompok perlakuan 3 (P3). Masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor tikus betina
4. Pengukuran berat badan tikus dilakukan setiap satu minggu sekali

4.7.3 Prosedur Ekstraksi Tempe di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

Tempe yang digunakan adalah tempe kedelai yang sudah difermentasi menggunakan ragi. Tempe sebanyak 3 kilogram diproses untuk dilakukan pengeringan yaitu tempe dipotong kecil dan dimasukkan ke oven dengan suhu

40°C - 60°C. Selanjutnya dilakukan proses ekstraksi yaitu bahan kering dihaluskan dengan blender, ditimbang dan direndam pelarut 900 ml (/100gram bahan) kemudian sebanyak 3 kali dikocok selama 30 menit dan direndam 1 malam sampai mengendap, selanjutnya diambil lapisan atas yang merupakan campuran pelarut dan zat aktif. Selanjutnya dilakukan proses evaporasi, campuran dimasukkan ke Labu Evaporasi 1L dan dipasang pada evaporator, water bath diisi sampai penuh dan suhunya diatur sesuai titik didih pelarut. Semua rangkaian alat dipasang dan disambungkan dengan aliran listrik. Pelarut dibiarkan terpisah dengan zat aktif, aliran pelarut dibiarkan sampai berhenti menetes pada labu pelampung ($\pm 1,5 - 2$ jam). Hasil ekstraksi dalam bentuk pasta didapatkan sekitar 1/5 dari bahan alam kering.

4.7.4 Prosedur Pengenceran Hasil Ekstrak Tempe

- Membuat larutan stok dengan konsentrasi ekstrak tempe sebanyak 5mg/ml
- Pengenceran ekstrak tempe, rumus yang digunakan adalah sebagai berikut:

$$V1.N1 = V2.N2$$

Keterangan :

V1 = volume larutan ekstrak yang diambil (ml)

N1 = konsentrasi ekstrak yang diambil (mg/ml)

V2 = volume larutan yang dibuat (ml)

N2 = konsentrasi larutan yang akan dibuat (mg/ml)

4.7.5 Prosedur Pemberian Ekstrak Tempe

1. Ekstrak tempe diberikan setiap hari pada tikus
2. Perhitungan dosis masing – masing tikus untuk 7x pemberian selama 7 hari yaitu :

$$\frac{=BB \text{ tikus} \times \text{dosis} (7,5 \text{ mg/KgBB/hari} ; 15 \text{ mg/KgBB/hari}; 30 \text{ mg/KgBB/hari}) \times 7 \text{ hari}}{1000\text{mL}}$$

3. Pemberian ekstrak tempe secara oral menggunakan sonde sampai ke faring lalu esofagus
4. Memegang tikus pada tangan kiri, kepala berada di telunjuk dan jari tengah, dan ibu jari berada dekat dengan rahang
5. Posisi kepala dan keadaan mulut harus diperhatikan. ketika tikus dipegang dengan posisi terbalik pastikan posisi kepala menengadah atau posisi dagu sejajar dengan tubuh dan mulut terbuka sedikit
6. Setelah itu melepaskan tikus dan mengembalikannya ke kandang

4.7.6 Prosedur pengukuran pH Vagina Menggunakan pH Indikator Strips MERCK

1. Tikus dipegang dengan posisi terlentang
2. Vagina tikus dibuka
3. Menggunakan *cotton swab* untuk mengambil sekret mukosa vagina yang berada pada introitus vagina dan kanalis vaginalis tikus dengan 3 kali putaran searah jarum jam

4. Hasil swab di oleskan pada pH indicator strips MERCK selama 1 sampai 3 detik maksimal 10 menit
5. Baca hasil pemeriksaan pH indicator strips sesuai dengan standard pH indicator strips MERCK (pH 0-14) (Ferris et al, 2006)

4.7.8 Prosedur Pengambilan Sampel Organ/ Pembedahan Hewan Coba

Pembedahan dilakukan dengan langkah sebagai berikut :

1. Disiapkan alat bedah minor pinset, gunting, formalin 10%, dan botol – botol tertutup untuk tempat organ tikus
2. Tikus diterminasi dengan cara menyuntikkan ketamin dengan dosis 0,1 ml per tikus dan ditunggu beberapa menit sampai tikus benar-benar mati
3. Tikus di tempatkan pada suatu alas papan dengan perut menghadap ke atas dan kaki ditancapkan jarum pada keempat kaki
4. Pembedahan dimulai dari daerah dinding dada kemudian dinding perut dibuka dengan menggunakan pinset dan gunting secara hati-hati
5. Dengan hati-hati mengambil jaringan payudara dengan cara menggunting tepat pada bagian sisi kiri dan kanan
6. Jaringan payudara dibersihkan dari seluruh ligament yang melekat
7. Jaringan payudara dimasukkan ke dalam botol kecil yang berisi larutan buffer formalin 10% yang sudah diberi kode perlakuan
8. Sampel organ dikelompokkan berdasarkan kelompok perlakuan

9. Jaringan payudara siap dikirim untuk pemrosesan menjadi preparat di laboratorium patologi anatomi FKUB
10. Bangkai tikus yang sudah tidak digunakan dikubur dalam tanah sedalam $\pm 25\text{cm}$

4.7.9 Prosedur Pembuatan Sediaan Histologi

a. Prosedur Pemotongan Jaringan Makros

1. Gross hasil bedah dimasukkan ke dalam larutan formalin 10% yang sudah dilakukan fiksasi selama semalam
2. Jaringan payudara dipilih yang terbaik sesuai yang akan diteliti
3. Kemudian dilakukan pemotongan jaringan payudara dengan kurang lebih dengan ketebalan 2-3mm
4. Dimasukkan ke dalam kaset dan diberi kode sesuai dengan kode gross peneliti
5. Dimasukkan ke larutan formalin 10% sebelum diproses/ dimasukkan ke alat Tissue Tex Processor
6. Diproses menggunakan Tissue Tex Processor selama 90 menit
7. Alarm bunyi tanda selesai

b. Proses pengeblokan dan pemotongan Jaringan

1. Preparat gross diangkat dari mesin Tissue Tex Processor

2. Preparat gross diblok dengan menggunakan paraffin cair sesuai kode jaringan
 3. Setelah paraffin cair mengeras dan dingin dipotong dengan alat mikrotom dengan ketebalan 3-5 mm
- c. Proses defaranisasi
1. Setelah dilakukan pemotongan dengan ketebalan 3-5 mm, preparat diletakkan didalam oven selama 30 menit dengan suhu 70-80°C
 2. Kemudian dimasukkan kedalam tabung larutan Xylol masing-masing 20 menit
 3. Setelah itu dimasukkan kedalam 4 tabung alcohol masing-masing tempat 3 menit (Hidrasi)
 4. Dibilas dengan air mengalir selama 20 menit
- d. Proses Pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE)
1. Cat utama Harris Hematoksilin selama 10-15 menit
 2. Cuci dengan air mengalir selama 15 menit
 3. Alkohol asam 1% 2-5 celup
 4. Amonia air 3-5 celup
 5. Cat pembanding Eosin 1% selama 10-15 menit

e. Proses Dehidrasi

1. Alkohol 70% selama 3 menit
2. Alkohol 80% selama 3 menit
3. Alkohol 96% selama 3 menit
4. Alkohol Absolut (99%) selama 3 menit

f. Proses Penjernihan

1. Dichelupkan pada larutan xylol pertama selama 60 menit
2. Dichelupkan pada larutan xylol kedua selama 60 menit
3. Cuci 3 kali dengan PBS

g. Proses Mounting dengan Entellan

1. Setiap slide diberi label
2. Satu tetes medium mounting (Entellan) dituangkan diatas prepa. ...
3. Cover glass ditutupkan ke atas preparat yang telah diberi mounting medium
4. Selanjutnya sediaan berupa gambaran jaringan payudara siap untuk di scan dengan alat scan dot dan siap untuk diamati

4.8 Analisis Data

Data dianalisis secara statistic menggunakan program *SPSS for Windows version* dengan tingkat signifikansi 0,05 ($p < 0,05$). Langkah-langkah uji data adalah sebagai berikut :

- a. Uji Normalitas data (uji Shapro wilk) : bertujuan untuk mengetahui apakah data memiliki sebaran/ distribusi yang normal atau tidak. Normal atau tidaknya distribusi data akan menentukan pemilihan penyajian data dan uji hipotesis. Untuk penyajian data yang tidak terdistribusi normal akan digunakan mean dan standar deviasi sebagai pasangan ukuran pemusatan dan penyebaran. Penyajian data yang tidak terdistribusi normal digunakan median dan minimum-maksimum sebagai pasangan ukuran pemusatan dan penyebaran. Apabila distribusi/sebaran data normal, maka uji hipotesis menggunakan uji parametric, sedangkan jika sebaran data yang tidak normal, maka uji hipotesis menggunakan uji non-parametrik. Uji normalitas yang digunakan pada penelitian ini adalah Spahiro-Wilk karena jumlah sampel yang digunakan kurang dari 50 ($n \leq 50$). Data dikatakan memiliki persebaran normal jika $p > 0,05$.
- b. Uji homogenitas varian (menggunakan uji Levene) : jika varian didalam kelompok homogen, maka asumsi untuk menggunakan Anova telah terpenuhi. Pada penelitian ini menggunakan uji Levene. Data dikatakan memiliki varian yang homogeny apabila nilai signifikansinya $p > 0.05$.
- c. Uji *One Way* ANOVA (analisa varian satu arah) bertujuan untuk membandingkan nilai rata-rata dari masing-masing kelompok perlakuan dan mengetahui bahwa minimal ada dua kelompok yang berbeda

dianggap signifikan. Perbedaan pada kedua kelompok dianggap signifikan bila $p < 0,05$.

- d. *Post hoc* test untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda secara signifikan dari uji ANOVA. Uji *post Hoc* yang digunakan adalah Uji Turkey HSD dengan tingkat signifikansi 95% ($p < 0,05$).
- e. Uji Korelasi *Pearson* untuk mengukur kekuatan hubungan dua variable atau lebih yang berskala interval (parametrik). Pada uji korelasi pearson, bila didapatkan ;
 1. Sig. (p) > 0,05 tidak ada korelasi antara dua variable.
Sig. (p) < 0,05 ada korelasi antara dua variabel
 2. Kekuatan korelasi > 0,5 korelasi yang cukup kuat.
Kekuatan korelasi < 0,5 korelasi yang lemah
 3. Arah korelasi positif (+) searah. Semakin besar nilai suatu variable, semakin besar pula nilai variable lainnya.
Arah korelasi negative (-) berlawanan arah. Semakin besar nilai suatu variable, semakin kecil nilai variable lainnya.

BAB 5

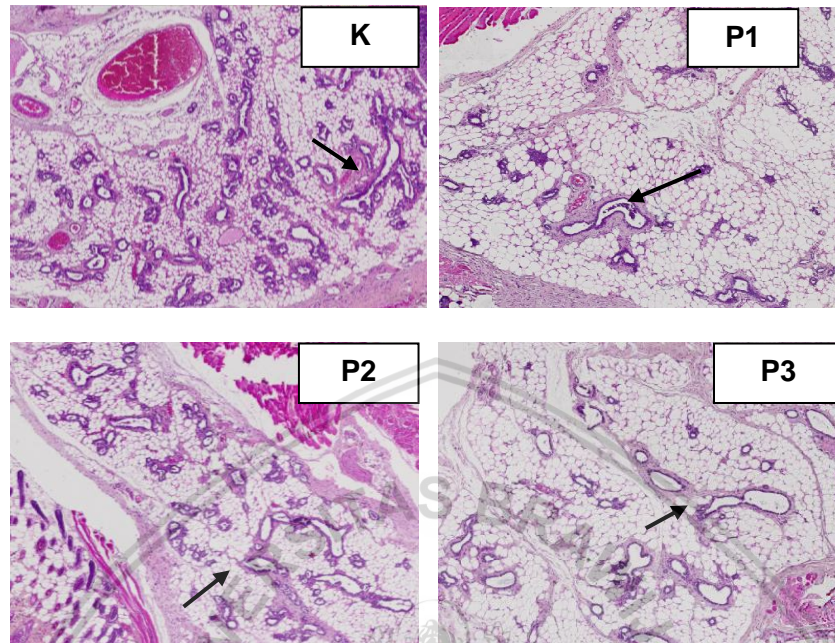
HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA

5.1 HASIL PENELITIAN

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan pengaruh ekstrak tempe terhadap jumlah duktus kelenjar susu payudara pada tikus *Rattus norvegicus* betina. Penelitian ini menggunakan desain eksperimental murni dengan rancangan penelitian *Randomized Post Test Only Control Group Design*. Adapun kelompok perlakuan dibedakan menjadi 4 kelompok, yaitu kelompok kontrol = diberi pakan standar tanpa diberikan diet ekstrak tempe; P1 = diberi pakan standar + ekstrak tempe dengan dosis 7,5 mg/200grBB; P2 = diberi pakan standar + ekstrak tempe dengan dosis 15 mg/200grBB; P3 = diberi pakan standar + ekstrak tempe dengan dosis 30 mg/200grBB. Ekstrak tempe diberikan setiap hari selama 28 hari.

Dari penampang histologi duktus kelenjar susu tikus (gambar 5.1) dibawah belum terlihat adanya perbedaan jumlah duktus kelenjar susu pada tikus. Pada kelompok Kontrol (pakan standar tanpa suplementasi ekstrak tempe) terdapat sedikit perbedaan jumlah duktus dibanding dengan kelompok P1. Pada kelompok perlakuan dosis 2 dan dosis 3 tampak tidak adanya perbedaan jumlah duktus kelenjar susu.

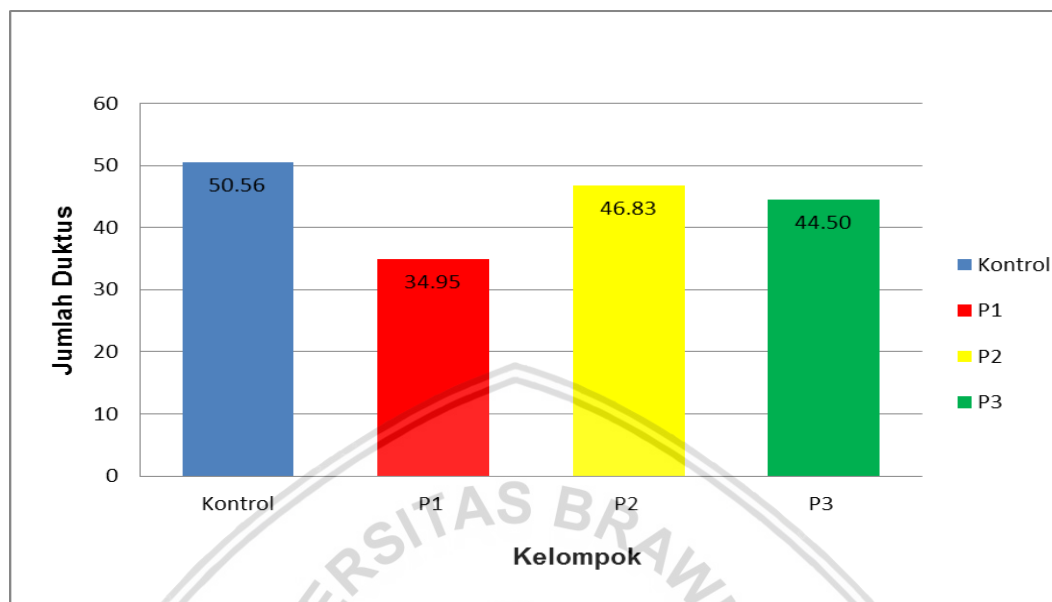
Gambaran dari histologi duktus kelenjar susu tikus *rattus norvegicus* dari berbagai dosis perlakuan berbeda dapat dilihat pada gambar berikut ini:



Gambar 5.1 Histologis duktus kelenjar susu payudara rattus norvegicus dengan pembesaran 200x. Pewarnaan *HE*. Anak panah berwarna hitam menunjukkan gambar duktus kelenjar susu payudara (↑). K (kelompok kontrol), P1(perlakuan ekstrak tempe dosis 7,5mg/200grBB), P2 (perlakuan ekstrak tempe dosis 15mg/200grBB), P3 (perlakuan ekstrak tempe dosis 30mg/200grBB).

Tabel 5.1 Rerata Jumlah Duktus Kelenjar Susu Payudara Tikus *rattus norvegicus* per payudara

Kelompok	N	Rerata	Std. Deviasi
Kontrol	3	50,5556	3,23751
P1 (7.5)	3	34,9524	5,67367
P2 (15)	3	46,8333	11,25956
P3 (30)	3	44,5000	5,75181
Total	12	44,2103	8,54865



Gambar 5.2 Diagram Batang Rerata Jumlah Duktus Kelenjar Susu Payudara Tikus Putih (*rattus norvegicus*) betina

Pada gambar 5.2 diatas terlihat perubahan jumlah duktus mammae dimana, pada kelompok kontrol memiliki nilai tertinggi dibanding kelompok perlakuan dosis 7,5mg/KgBB, kemudian terjadi peningkatan jumlah duktus pada kelompok dengan dosis 15mg/KgBB namun tidak melebihi nilai kontrol. Pada kelompok perlakuan dengan dosis 30mg/KgBB terjadi penurunan jumlah duktus. Pemberian ekstrak tempe tidak dapat meningkatkan jumlah duktus mammae secara bermakna.

5.2 Analisa Data

5.2.1 Uji Normalitas Data

Pertama dilakukan uji normalitas data. Untuk menguji distribusi normal digunakan *Shapiro-Wilk*. Adapun kriteria keputusan, yaitu bila nilai *Sig* atau *p-value* lebih besar dari taraf signifikansi $\alpha = 0.05$ maka data terdistribusi normal dan sebaliknya bila nilai *Sig* atau *p-value* lebih kecil dari taraf signifikansi $\alpha = 0.05$

maka data tidak terdistribusi normal. Pada analisis uji *Saphiro-Wilk* diperoleh hasil sebagai berikut pada tabel di bawah ini

Tabel 5.2 Hasil uji normalitas data

Tests of Normality						
	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Jumlah Duktus	.128	12	.200*	.977	12	.969

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Keterangan : Jika data *p-value* < 0.05 berarti data tidak terdistribusi normal dan jika *p-value* > 0.05 maka data terdistribusi normal.

Pada tabel 5.2 berdasarkan hasil uji *Saphiro-Wilk* diperoleh data jumlah duktus mammae untuk masing-masing kelompok pengamatan menunjukkan nilai *p-value* yang lebih besar dari taraf signifikansi $\alpha = 0.05$. Semua data telah memenuhi prasyarat parametrik, yaitu data terbukti distribusi normal. Selanjutnya dilakukan uji homogenitas

5.2.2 Uji Homogenitas

Uji homogenitas digunakan untuk mengetahui perbedaan varians antara kelompok data yang dibandingkan dan untuk mengetahui apakah varians data yang digunakan adalah sama. Untuk menguji homogenitas varian ini digunakan *Levene test*. Data dapat dikatakan homogeny bila nilai *Sig* atau *p-value* lebih besar dari taraf signifikansi $\alpha = 0.05$ maka data homogen dan sebaliknya bila nilai *Sig* atau *p-value* lebih kecil dari taraf signifikansi $\alpha = 0.05$ maka data tidak homogen.

Tabel 5.3 Hasil Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Jumlah Duktus

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.847	3	8	.105

Pada tabel 5.3 berdasarkan hasil uji *Levene test* diperoleh data jumlah duktus mammae untuk masing-masing kelompok pengamatan *p-value* menunjukkan bahwa nilai $p = 0,105$ ($p > 0,05$) Semua data telah memenuhi prasyarat parametrik, yaitu varian yang homogen.

Karena hasil penelitian memiliki distribusi normal dan varian yang homogen maka dapat dilakukan uji *One-Way ANOVA* (Analysis of Variance).

5.2.3 Uji One-Way ANOVA

Uji One-Way ANOVA dilakukan untuk melihat perbedaan jumlah duktus mammae pada taraf perlakuan. Bertujuan untuk membandingkan nilai rata-rata dari masing-masing kelompok perlakuan dan mengetahui bahwa minimal ada dua kelompok yang berbeda dianggap signifikan. Perbedaan pada kedua kelompok dianggap signifikan bila $p < 0,05$.

Tabel 5.4 Hasil Uji *One-Way* ANOVA

ANOVA

Jumlah Duktus					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	398.807	3	132.936	2.625	.122
Within Groups	405.066	8	50.633		
Total	803.873	11			

Dari hasil uji *One-Way* ANOVA didapatkan bahwa nilai $p = 0.122$ ($p > 0.05$). Dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan atau perbedaan rata-rata jumlah duktus mammae tidak terlalu jauh antar kelompok.

Dari hipotesis penelitian yakni pemberian ekstrak tempe yang diberikan pada tikus (*rattus norvegicus*) betina belum dapat meningkatkan jumlah duktus mammae dan tidak signifikan secara statistik.

BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak tempe terhadap jumlah duktus kelenjar susu payudara pada tikus putih (*Rattus norvegicus*). Pada penelitian ini terdapat 4 kelompok penelitian. Kelompok kontrol (K) merupakan kelompok yang tidak diberikan ekstrak tempe, kelompok P1 dengan dosis ekstrak tempe 7,5mg/200grBB; kelompok P2 dengan dosis ekstrak tempe 15mg/200grBB; dan kelompok P3 dengan dosis ekstrak tempe 30mg/200grBB. Perlakuan ekstrak tempe diberikan selama 28 hari. Setelah itu, dilakukan pembedahan untuk pengambilan payudara tikus. Kemudian, dilakukan pembuatan preparat dengan pewarnaan metode HE (Hematoxylin Eosin) serta perhitungan jumlah duktus kelenjar susu payudara tikus.

Hasil rerata Jumlah duktus pada kelompok kontrol adalah $50,55 \pm 3,23$. Pada kelompok P1 memiliki nilai rerata jumlah duktus $34,95 \pm 5,67$. Kemudian, pada kelompok P2 nilai rerata yakni $46,83 \pm 11,25$. Serta, pada kelompok P3 didapatkan rerata jumlah duktus $44,50 \pm 5,75$. Rerata Jumlah duktus pada kelompok kontrol memiliki nilai tertinggi dibanding dengan rerata jumlah duktus pada kelompok yang diberikan ekstrak tempe. Berdasarkan hasil uji analisa *one-way* ANOVA, didapatkan *p-value* sebesar 0.122 ($p > 0.05$) yang mengandung arti tidak adanya perbedaan yang signifikan antara pemberian ekstrak tempe terhadap jumlah duktus kelenjar susu payudara *Rattus norvegicus*.

Pada kelompok perlakuan 1 pemberian ekstrak tempe 7,5mg/200grBB terjadi penurunan jumlah duktus kelenjar susu, dimana memiliki nilai rerata sebesar $34,95 \pm 5,67$. Ekstrak tempe mengandung fitoestrogen yang mampu berinteraksi dengan estrogen reseptor yakni $ER\alpha$ dan $ER\beta$, dimana dapat memediasi banyak tindakan. Namun, afinitas pada $ER\alpha$ dan $ER\beta$ relatif lemah dibandingkan dengan estradiol (Jefferson, et al; 2012). Sehingga pada dosis yang rendah, afinitas ikatan fitoestrogen dengan reseptor estrogen endogen belum mampu meningkatkan jumlah duktus mammae.

Tempe merupakan salah satu makanan berbahan dasar kedelai dimana kedelai mengandung senyawa yang bernama fitoestrogen. Fitoestrogen memiliki struktur dan fungsi yang hampir sama dengan estrogen tubuh. Aktivitas fitoestrogen ini dipengaruhi oleh adanya cincin fenolik yang memungkinkan fitoestrogen mengikat estrogen reseptor. Fitoestrogen dapat bekerja sebagai selective estrogen receptor modulators (SERMs) dimana memiliki 2 sifat yakni dapat memberikan efek estrogenik maupun antiestrogenik (Zhang Li, et al; 2009). Ketika kadar estrogen dalam keadaan normal, fitoestrogen akan bersifat antagonis terhadap estrogen endogen sedangkan pada kondisi menopause, dimana kadar estrogen rendah fitoestrogen dapat bersifat proestrogenik (Cvejic, et al; 2012).

Pada kelompok perlakuan 2 dengan pemberian ekstrak tempe 15mg/200grBB mengalami peningkatan jumlah duktus kelenjar susu namun tidak signifikan yakni dengan nilai rerata $46,83 \pm 11,25$. Menurut Oseni et al (2008) Afinitas ikatan fitoestrogen lebih tinggi terhadap $ER\beta$. Genistein dapat bertindak sebagai ligan estrogen reseptor untuk bersaing ketika berikatan dengan estrogen. Afinitas ikatan

genistein, *dihydrogenistein* dan *equol* pada ER β hampir mirip dengan ikatan 17- β -estradiol. Genistein diketahui memiliki ikatan yang kuat dalam berikatan dengan estrogen reseptor. Meskipun genistein mengikat ER β kuat seperti 17- β -estradiol, namun genistein tidak menginduksi transkripsi sekuat 17- β -estradiol.(Morito,et al;2001).

Pada kelompok perlakuan 3 pemberian ekstrak tempe dengan dosis 30mg/200grBB mengalami penurunan jumlah duktus yakni dengan nilai rerata 44,50 \pm 5,75. Ekstrak tempe diberikan pada tikus usia 4 minggu hingga 8 minggu, dimana jika pada manusia setara dengan masa kanak-anak. Pada masa kanak-anak dimana kadar estrogen yang masih rendah dan belum matangnya HPO (Hipofisis Pituitary dan Ovarium) axis menyebabkan sensitifitas terhadap senyawa estrogenik eksogen lebih tinggi dibandingkan dengan dewasa (Sofronescu, 2015).

Menurut Zin et al (2013) genistein selain dapat berikatan langsung dengan target organ, juga dapat mengikat reseptor estrogen di hipotalamus yang diketahui dapat mengurangi produksi *gonadotropin releasing hormone* (GnRH). Sehingga mengurangi sekresi FSH dan LH. Akibat berkurangnya sekresi kadar FSH mempengaruhi penurunan kadar estrogen.

Pada payudara terdapat dua estrogen reseptor (ER) yakni reseptor α dan reseptor β . Menurut Adgent (2010) afinitas isoflavon rendah terhadap reseptor endongen di sel epitel jaringan payudara. Menurut Hertamprf, et al (2006) pemberian genistein dalam jangka waktu pendek yakni selama 14 hari tidak menyebabkan terjadi nya proliferasi pada jaringan payudara non malignant. Selain itu, pada

penelitian ini, memiliki hasil yang berbeda dengan penelitian oleh Farantia (2016) dimana pemberian susu kedelai pada tikus selama 28 hari menunjukkan adanya peningkatan ekspresi reseptor beta ($ER\beta$) dan peningkatan diameter lumen duktus mammae.

Berdasarkan hasil penelitian (gambar 5.2), tampak bahwa pemberian ekstrak tempe belum dapat meningkatkan jumlah duktus kelenjar susu payudara tikus. Dari hasil analisis didapatkan bahwa pemberian ekstrak tempe terhadap jumlah duktus kelenjar susu tidak terdapat perbedaan yang bermakna. Dimana, dari 3 kelompok perlakuan yang diberi ekstrak tempe kecenderungan mengalami penurunan jumlah duktus dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Dari Kelompok kontrol (K), terlihat bahwa rata-rata jumlah duktus menurun pada kelompok perlakuan pemberian ekstrak tempe 7,5mg/200grBB (P1). Pada kelompok P2 pemberian ekstrak tempe 15mg/200grBB mengalami peningkatan namun masih berada di bawah kontrol. Kemudian, peningkatan dosis ekstrak tempe 30mg/200grBB (P3) kembali mengalami penurunan. Namun, perubahan jumlah duktus kelenjar susu payudara *rattus norvegicus* akibat pemberian ekstrak tempe berbagai dosis tidak signifikan secara statistik. Mungkin hal tersebut disebabkan antara lain (1) jumlah kelenjar mammae tikus terdiri dari 6 pasang atau 12 buah. Kemudian untuk penelitian ini menggunakan 3 buah per tikus dari total jumlah kelenjar mammae. (2) proses pengirisan kelenjar mammae.

Pada proses pengolahan dan pembuatan sediaan preparat pada kelenjar mammae juga harus diperhatikan agar dapat memberikan sampel yang

representatif. Menurut Hvid H, et al (2010) pemotongan secara horizontal pada kelenjar mammae tikus menunjukkan signifikansi hasil sampel. Dimana sampel yang didapatkan lebih luas dan informatif pada jaringan di kelenjar mammae dibandingkan dengan pemotongan transversal. Selain itu diperlukan adanya penambahan jumlah replikasi sampel untuk mendapatkan hasil yang lebih representatif

Beberapa keterbatasan yang perlu dilakukan pada penelitian selanjutnya adalah keterbatasan waktu penelitian sehingga, diharapkan untuk penelitian selanjutnya dapat menambah waktu penelitian, selain itu jumlah sampel kelenjar mammae tikus ditambah agar dapat memberikan variasi hasil penelitian. Penelitian ini tidak melakukan uji kadar isoflavon dikarenakan keterbatasan alat dan dana, sehingga pada penelitian selanjutnya perlu dilakukan pengujian kadar isoflavon pada tempe untuk mengurangi terjadinya bias pada penelitian.

BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

1. Pemberian ekstrak tempe tidak dapat meningkatkan jumlah duktus kelenjar susu tikus (*Rattus norvegicus*) betina.

7.2 Saran

Pada Penelitian selanjutnya dapat dilakukan :

1. Penambahan waktu pemberian ekstrak tempe.
2. Perlu dipertimbangkan untuk penelitian selanjutnya penambahan jumlah sampel.
3. Penambahan variabel pada ekspresi reseptor estrogen α dan β pada duktus kelenjar susu.
4. Pada pembuatan sediaan preparat, perlu diperhatikan proses pemotongan pada kelenjar mammae yakni pemotongan secara horizontal.
5. Perlu dilakukan uji kadar isoflavon pada tempe untuk mengurangi terjadinya bias penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Adgent, M.A. 2010. Early Life Soy Exposure and Child Development : An Assesment of Languange Acquisition, Play Behaviout and Time-to-Menarche. Disertasi.
- Agustini Kurnia., Sumali W., Dadang K., *Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Klabet (Trigonella foenumgraecum L.) Terhadap Perkembangan Kelenjar Mamae Tikus Putih Betina Galur Wistar. Majalah Ilmu Kefarmasian Vol. IV, 2007, (1) : 26 - 36*
- Akbar, B., 2010, *Tumbuhan dengan Kandungan Senyawa Aktif Yang Berpotensi Sebagai Bahan Antifertilitas*, Adabia Press, Jakarta.
- Asma Javed, MBSS., Aida L.,. 2013. *Development of the Human Breast*. Division of pediatric endrocrinology, Department of pediatric and adolescent medicine, mayo clinic, Rochester, Minnesota. 27: 5-12.
- Astutik, R.Y. 2014. *Payudara dan Laktasi*. Jakarta : Salemba Medika
- Atun, Sri. 2009. *Potensi Senyawa Isoflavon Dan Derivatnya Dari Kedelai (Glycine Max. L) Serta Manfaatnya Untuk Kesehatan*. Fakultas MIPA Universitas Negeri Yogyakarta. hal 33
- BSN. 2012. Tempe: *Persembahan Indonesia untuk Dunia*. Jakarta: Badan Standarisasi Nasional
- Eroschenko VP. 2008. *Atlas Histologi diFiore. Edisi ke-11*. Jakarta: EGC. hal 137-9
- Farantia, Poppy Saputri. 2016. *Pengaruh Pemberian Susu Kedelai Pada Tikus (Rattus norvegicus) Sejak Usia 4 Minggu hingga 8 Minggu Terhadap Ekspresi Reseptor Estrogen (ER- β) Pada Sel Epitel dan Diameter Lumen Ductus Mammae*. Tesis. Tidak diterbitkan, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang.
- Guyton AC, Hall JE. 2012. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran (Terjemahan) 11 ed*. Jakarta: EGC
- Haron H., Amin., Azrina A., Suzana S., Loh SP. *Daidzein and genistein content in tempeh and selected soy products*. 2009. p. 1350.

- Haryono SJ, Sukasah C, Swantari N, 2011. *Payudara. Dalam: Sjamsuhidayat R, De Jong WD. Buku ajar ilmu bedah, Edisi ke-3.* Jakarta:EGC, hal. 140-5
- Heffner LJ., Danny JS. 2010. *The reproductive system at a glance.* UK. A John Wiley & Sons, Ltd, Publication
- Hertramf T, Schmidt S, Seibel J, Laudénbach-Leschowky, Degen GH, Diel P. Abstract. *Planta Med.* 72 (4) 304 – 10
- Hvid, H., Ingert T., Martin B. Oleksiewicz., Ingrid S., dan Henrik E.J. 2010. *An Alternative Method for Preparation of Tissue Sections from Rat Mammary Gland. Denmark., Department of Pathology.* 63(2011): 317-324
- Jefferson, Wendy N., Heather B. Pattisaul., and Carmen J. Williams. 2012. *Reproductive Consequences of Developmental Phytoestrogen Exposure.* Raleigh, USA. Department of Biology. 143(3): 247-260.
- Jonqueira LC, Carneiro J. 2007. *Histologi dasar dan teks dan atlas.* Edisi 10. Jakarta: EGC
- Karlina, Y., 2003, *Siklus Estrus Dan Struktur Histologi Ovarium Tikus Putih (Rattus Norvegicus) Setelah Pemberian Alprazolam*, Tesis, Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Kemenkes RI. 2016. *Profil Kesehatan Indonesia Tahun 2015.* Jakarta: Kemenkes RI, hal. 7.
- Kerr, Jeffrey B. 2010. *Functional Histology 2nd Edition.* Australia: Elsevier
- Kim, S.H and Park, M.J. 2012. *Effect of phytoestrogen on sexual development. The Korean Pediatric Society.* Review Article 55(8): 265-271
- Lowe, J.S. 2008. *Human Histology, 4th Edition.* China : Elsevier pg 379-383
- Moore KI., Agur AM, Keith LM. 2002. *Essential Clinical Anatomy.* Anatomi Klinis Dasar. Hipokrates Hal 35-39

- Morito, K., Toshiharu H., Junei K., Tomoki H., Masafumi O., Toshihiro N., Sumito O., Satoshi I., Masami M., dan Yukito M., 2001. *Interaction of Phytoestrogens with Estrogen Receptor α and β* . Saitama, Japan. Pharmaceutical Society of Japan. 24(4) 351 – 356
- Nadesul, H. 2008. *Cara Sehat Menjadi Perempuan*. Jakarta: Kompas Media Nusantara
- Oseni, T., Roshani, P., Jennifer P., dan V.Craig. J.,2008. *Selective Estrogen Receptor Modulators and Phytoestrogens*. Philadelphia. Planta Med. 74(13): 1656-1665
- Prabowo H.A. 2014. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Kedelai Terhadap Jumlah Folikel Ovarium Pada Tikus Putih (Rattus norvegicus,L.)*. Abstrak. Tugas Akhir. Universitas Negeri Yogyakarta
- Proverawati, A. 2010. *Menopause dan Sindrom Premenopause*. Edisi 1. Yogyakarta: Muha Medika
- Schnitt, Stuart J., Laura C. C. 2012. *Biopsy interpretation of the breast*. Philadelphia, PA: Lipincott Williams & Wilkins
- Silverthorn, Dee Unglaub. 2013. *Fisiologi Manusia: Sebuah pendekatan terintegrasi Edisi 6*. Jakarta: EGC
- Soesanti, Frida.2015. *Kapan Anak Dikatakan Mengalami Pubertas?*. (Online). (<http://www.idai.or.id/artikel/seputar-kesehatan-anak/kapan-anak-dikatakan-mengalami-pubertas>, diakses 16 Juli 2017)
- Steel RGD, Torrie J.H. 1991. *Prinsip dan Prosedur Statistika Suatu Pendekatan Biometrik Cetakan ke-2*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka
- Sugiyono, 2005. *Metode Penelitian Kualitatif*. Alfabeta, Bandung
- Susianto & Ramayulis, Rita. 2013. *Fakta Ajaib Khasiat Tempe*. Jakarta: Penebar plus hal.8

- Sutrisno, *Efek Genistein terhadap eNOS, BCL2, dan Apoptosis pada kultur Sel Endotel Umbilikus (HUVECs) yang mengalami Stress Oksidatif* [disertasi]. Surabaya: Laboratorium Obstetri dan Ginekologi FK Universitas Airlangga.2010
- Treuting, P., Suzzane M., Dintsiz, Charles W., 2012. *Comparative Anatomy and Histology: A Mouse and Human Atlas*. USA: Elsevier, p 41-52
- USDA. 2008. *Database for the Isoflavone Content of Selected Foods release 2.0*. United State: Department of Agricultural Research Service.
- Wha Chung, Jin. 2013. *Breast Augmentation by The Effect of Phytoestrogen*. The catholic University of Korea, Seoul Korea
- Winarsi, 2005. *Isoflavon, sifat dan manfaatnya pada penyakit degeneratif*. Yogyakarta, UGM University Press
- Winarsi, Hery. 2010. *Protein Kedelai dan Kecambah Manfaatnya bagi Kesehatan*.Yogyakarta: Kanisius hal 15
- Zhang Y., Li Q., Wan., Helferich, W.G., dan Wong, M. 2009. *Genistein and soy extract differentially affect three-dimensional bone parameters and bone-specific gene expression in ovariectomized Mice 1-3*. The Journal of Nutrition, vol 139 (12): 2230-2236
- Zin Siti R., Siti Zawiah O., Norhayati Liaqat A.K., Nurul Iftitah M., Srijit D., dan Normadiyah M., 2013. *Effects of the Pytoestrogen Genistein on the Development of th Reproductive System of Sprague Dawley Rats*. Kuala Lumpur, Malaysia. Universiti Malaya, Department of Anatomy. 68(2): 253-26